



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA
SALUD

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

TESIS DOCTORAL:

***CALCIUM SCORE* EN ARTERIA ILÍACA COMO MARCADOR INNOVADOR
DE CARGA ATEROSCLERÓTICA TOTAL EN ENFERMEDAD ARTERIAL
PERIFÉRICA**

Presentada por Dña. Irene Martín Morquecho

para optar al grado de

Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por

Dra. María Lourdes Del Río Solá

NOTA DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo forma parte de una línea de investigación sobre riesgo cardiovascular e imagen cardiovascular realizada en colaboración por los Servicios de Cardiología, Cirugía Vascul y Angiología, y Radiodiagnóstico del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Los miembros del equipo de investigación han verificado toda la información presente en este documento y aseguran que es veraz, singular y que se encuentra libre de plagios.

CONFLICTOS DE INTERÉS:

No existen conflictos de interés respecto a la información presentada en la presente tesis doctoral.

A mis padres, por animarme a ser mejor médico y persona.

A David por ser el mejor compañero de vida

“El buen médico trata la enfermedad. El gran médico trata al paciente que tiene la enfermedad”

William Osler

“El triunfo supremo de la razón es arrojar dudas sobre su propia validez ”

Miguel de Unamuno

ÍNDICE.

Índice.

Abreviaturas.....	10
Índice de tablas.....	12
Índice de ilustraciones.	14
1. RESUMEN.....	18
1.1 RESUMEN.....	19
1.2 ABSTRACT.	22
2. INTRODUCCIÓN.....	25
2.1 La enfermedad aterosclerótica.....	26
<i>a) Concepto e importancia.</i>	<i>26</i>
<i>b) Etiología.</i>	<i>29</i>
<i>c) Fisiopatología e historia natural de la enfermedad.....</i>	<i>39</i>
<i>d) Aproximación diagnóstica.</i>	<i>54</i>
2.2 Papel de la imagen en la predicción del riesgo cardiovascular.....	75
<i>a) c-IMT como marcador de aterosclerosis.....</i>	<i>77</i>
<i>b) CCS como marcador de aterosclerosis y riesgo cardiovascular.....</i>	<i>78</i>
<i>c) CCS, carga aterosclerótica global y función ventricular izquierda.....</i>	<i>81</i>
<i>d) ICS e i-IMT como nuevos marcadores de aterosclerosis.....</i>	<i>82</i>
2.3 Genética y aterosclerosis.....	86
<i>a) Polimorfismos genéticos asociados a aterosclerosis.</i>	<i>88</i>
<i>b) Polimorfismos genéticos asociados a calcificación arterial.....</i>	<i>90</i>
<i>c) Relación entre marcadores géticos e imagen cardiovascular.....</i>	<i>93</i>
<i>d) Utilidad clínica actual.....</i>	<i>94</i>
3. HIPÓTESIS.	95

3.1 Justificación del trabajo.....	96
3.2 Hipótesis.....	97
4. OBJETIVOS.....	99
4.1 Objetivo primario.....	100
4.2 Objetivos secundarios.....	100
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	101
5.1 Ámbito del estudio.....	102
5.2 Diseño del estudio.....	102
5.3 Pacientes incluidos en el estudio.....	104
5.4 Consideraciones éticas.....	105
5.5 Variables analizadas.....	105
5.6 Exploraciones hemodinámicas no invasivas.....	107
5.7 Análisis de imagen.....	107
5.8 Análisis genético.....	110
5.9 Análisis estadístico.....	111
6. RESULTADOS.....	113
6.1 Análisis de la cohorte.....	114
6.2 ICS e i-IMT como nuevos marcadores de carga aterosclerótica total.....	127
6.3 Marcadores genéticos asociados a ICS.....	140
7. DISCUSIÓN.....	151
7.1 Principales hallazgos y puesta en contexto.....	152
7.2 Comparación de los resultados con la literatura.....	155
7.2.1 Trabajos que evalúan técnicas marcadores por imagen de riesgo cardiovascular..	155
7.2.2 Trabajos que evalúan marcadores genéticos de riesgo cardiovascular.....	158
7.2.3 Características diferenciales de nuestro trabajo.....	162

7.3 Consecuencias para la práctica clínica.....	163
7.4 Futuras líneas de investigación.....	165
7.5 Limitaciones de la investigación.....	167
8. CONCLUSIONES.....	169
9. ANEXOS.....	171
Anexo I. Clasificación clínica de enfermedad arterial periférica de Fontaine (5).....	172
Anexo II. Clasificación de Rutherford (5).....	173
Anexo III. Clasificación TASC II arterias iliacas (9).....	174
Anexo IV. Clasificación TASC II arterial femorales (9).....	176
Anexo V. Score Syntax enfermedad arterial coronaria (107).....	178
Anexo VI. Clasificación Gensini enfermedad arterial coronaria (108).....	181
Anexo VII. Artículos publicados en revistas científicas.....	183
10. BIBLIOGRAFÍA.....	184

Abreviaturas.

ICS: Iliacs calcium score. Score de calcio ilíaco.

CCS: Coronary calcium score. Score de calcio coronario.

IM: Íntima-media.

i-IMT: Iliacs intima-media thickness index. Índice de grosor íntima-media ilíaco.

c-IMT: Carotids intima-media thickness index. Índice de grosor íntima-media carotideo.

EAP: Enfermedad arterial periférica.

EAC: Enfermedad arterial coronaria.

EACV: Enfermedad arterial cerebrovascular.

ECV: Enfermedad cardiovascular.

PA: Presión arterial.

c-LDL: Colesterol LDL.

c-HDL: Colesterol HDL.

Gla: Ácido carboxiglutámico.

MGP: Proteínas Gla de matriz.

CTA: Computerized tomographic angiography. Angiografía por tomografía computarizada.

ETT: Ecocardiografía transtorácica.

TC: Tomografía computarizada.

ARM: Angiografía por resonancia magnética.

SCORE: Systemic Coronary Risk Estimation.

VI: Ventrículo izquierdo.

OR: Odds Ratio.

HR: Hazard Ratio.

UH: Unidades hounsfield.

FEVI: Fracción de eyección de ventrículo izquierdo.

TCI: Tronco coronario izquierdo.

DA: Descendente anterior.

CX: Circunfleja.

CD: Coronaria derecha.

VAo: Válvula aortica.

IVUS: Intravascular ultrasound. Ultrasonido intravascular.

hsCRP: Proteína C reactiva de alta sensibilidad.

cMV: Microvesículas circulantes.

HF: Hipercolesterolemia familiar.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

SNPs: Single nucleotide polymorphisms. Polimorfismos de nucleótido único.

GWAS: Genomewide association studies. Estudios de asociación de genoma completo.

CIA: Arteria ilíaca común.

EIA: Arteria ilíaca externa.

CFA: Arteria femoral común.

SFA: Arteria femoral superficial.

Índice de tablas.

Tabla 1. Factores de riesgo cardiovascular: modificables, no modificables y no convencionales	31
Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular y su asociación a aterosclerosis en distintos territorios en la población del registro REACH	37
Tabla 3. Clasificación histológica de las lesiones ateroscleróticas. Tomada de Stary HC et al.	52
Tabla 4. Características basales de los pacientes incluidos en el estudio.....	115
Tabla 5. Análisis de los datos de imagen de la población a estudio.	126
Tabla 6. Correlación Score Agatston coronario (CCS) - calcio arterial iliaco (ICS), Grosor íntima-media iliaco (i-IMT) - calcio arterial iliaco (ICS) y Score Agatston coronario (CCS) - grosor íntima-media iliaco (i-IMT).....	127
Tabla 7. Correlación entre el calcio arterial iliaco (ICS) y el calcio mediante Agatston en cada una de las arterias coronarias (TCI, DA y CD) y el calcio valvular aórtico.....	130
Tabla 8. Análisis de regresión lineal múltiple de relación entre la cuantificación de calcio en el eje iliaco (ICS) y las variables independientes: edad, sexo, diabetes, enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, dislipemia y tabaquismo.....	131
Tabla 9. Características basales de los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus del estudio.....	132
Tabla 10. Correlación score Agatston coronario (CCS) - calcio arterial iliaco (ICS), grosor íntima-media iliaco (i-IMT) - calcio arterial iliaco (ICS) y score Agatston coronario (CCS) - grosor íntima-media iliaco (i-IMT) en la población diabética del estudio.	133
Tabla 11. Análisis de regresión lineal múltiple de relación entre la cuantificación de calcio arterial iliaco (ICS) y las variables independientes edad, sexo, diabetes,	

enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, dislipemia y tabaquismo, en diabéticos.	136
Tabla 12. Correlación entre el grosor intima-media iliaco medido por TC (i-IMT) y la gravedad de la enfermedad arterial periférica.....	137
Tabla 13. Genómica LGC. Enumera las llamadas para cada SPN en cada pozo con una identificación de sujeto. C: controles. P: pacientes o casos.....	141
Tabla 14. Genotipo y alelos de casos y controles. C: controles. P: pacientes o casos.	144
Tabla 15. Resumen de procesamiento de estudio genético (SPNs) de casos y controles.....	145
Tabla 16. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs10902661.....	146
Tabla 17. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11164798.....	146
Tabla 18. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs347152.....	147
Tabla 19. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs9381256.....	147
Tabla 20. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs6569979.....	148
Tabla 21. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs7023109.....	148
Tabla 22. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11024756.....	149
Tabla 23. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11062625.....	149
Tabla 24. Correlación entre los polimorfismos de un solo nucleótido estudiados (SPNs) y la cuantificación de calcio iliaco (ICS) en estudio casos control.....	150

Índice de ilustraciones.

Ilustración 1. Prevalencia de aterosclerosis en diferentes territorios vasculares. Estudio PESA.	28
Ilustración 2. Prevalencia de aterosclerosis subclínica por edad y sexo en estudio PESA.	29
Ilustración 3. Prevalencia de la enfermedad vascular en diferentes territorios, registro REACH.	38
Ilustración 4. Esquema clásico del inicio de la formación de una placa aterosclerótica	42
Ilustración 5. Imágenes de tomografía computarizada e imágenes de ultrasonido intracoronario (IVUS) de calcificación coronaria	46
Ilustración 6. Microfotografía de una placa de ateroma (lesión tipo IV) en arteria descendente anterior proximal.....	49
Ilustración 7. Microfotografía aumentada de una placa de ateroma (lesión tipo IV) en arteria coronaria. Rotura de placa y trombosis.....	49
Ilustración 8. Microfotografía de sección de arteria coronaria con placa avanzada (Lesión tipo VI).....	51
Ilustración 9. Dibujo de secciones transversales de arterias coronarias. Clasificación de lesiones ateroscleróticas	53
Ilustración 10. Riesgo atribuible poblacional de cardiopatía isquémica (CI) y enfermedad vascular cerebral (ACV) para los cinco factores de riesgo cardiovascular clásicos en España.	56
Ilustración 11. Systemic Coronary Risk Estimation (SCORE) para estimar el riesgo de muerte cardiovascular a 10 años, en poblaciones de bajo riesgo cardiovascular como la nuestra	58

Ilustración 12. Regiones de riesgo según las tasas de mortalidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS).....	59
Ilustración 13. Forma de medir el ITB según las guías sobre el diagnóstico y tratamiento de enfermedad arterial periférica, de la Sociedad Europea de Cardiología en colaboración con la Sociedad de Cirugía Vascolar.....	65
Ilustración 14. Imagen de ecografía dúplex (ED) arterial de extremidad inferior de un paciente de nuestro estudio.....	67
Ilustración 15. Imagen de ecografía dúplex (ED) arterial de extremidad inferior con estudio funcional (doppler pulsado) de un paciente de nuestro estudio.....	68
Ilustración 16. Angiografía por sustracción digital de un paciente con isquemia crítica. Las flechas señalan obstrucción arterial completa.	69
Ilustración 17. Imagen de angiografía para procedimientos terapéuticos de dos pacientes del estudio.....	70
Ilustración 18. Imágenes de CTA de extremidades inferiores, como parte del estudio de pacientes con enfermedad arterial periférica. Imágenes de CTA de pacientes del estudio.....	72
Ilustración 19. A: Imagen anatómica de arteria iliaca. B: CTS arteria iliaca. C: Angiografía por sustracción digital arteria iliaca.....	72
Ilustración 20. Angiografía por resonancia (ARM) con contraste de las arterias periféricas de extremidades inferiores	74
Ilustración 21. Medida del grosor íntima-media carotideo en modo B. Un plano longitudinal de arteria carótida común (ACC) izquierda	78
Ilustración 22. TC cardiaco, donde se puede apreciar la calcificación a nivel de las arterias coronarias. Imagen de uno de los pacientes del presente trabajo.....	81

Ilustración 23. TC iliaco, donde se puede apreciar la calcificación arterial a nivel de la pared vascular de ambas arterias ilíacas. Imagen de TC de un paciente del estudio.	85
Ilustración 24. Gravedad de la enfermedad arterial periférica (EAP) de extremidades inferiores de los pacientes de la muestra por la clasificación de Rutheford.	116
Ilustración 25. Histogramas del estudio de distribución normal de las variables cuantitativas analizadas en la muestra.	125
Ilustración 26. Correlación entre el Score Agatston coronario (CCS) y el Score de calcio en el eje arterial iliaco (ICS).	128
Ilustración 27. Correlación entre el grosor intima-media ilíaco (i-IMT) y la cuantificación de calcio arterial iliaco (ICS).	128
Ilustración 28. Correlación entre el grosor intima-media iliaco (i-IMT) y score Agatston coronario (CCS).	129
Ilustración 29. Correlación entre el score Agatston coronario y la cuantificación de calcio en el eje arterial iliaco en la población diabética del estudio.	133
Ilustración 30. Correlación entre el grosor intima-media iliaco medido por Tc y la cuantificación de calcio en el eje arterial iliaco en población diabética del estudio.	134
Ilustración 31. Correlación entre el grosor intima-media iliaco pedido por TC y el score Agatston coronario en la población diabética.	134
Ilustración 32. Metodología para la cuantificación de calcio en arterias ilíacas en TC iliaco, mediante método de Agatston. Imagen de uno de los pacientes del estudio.	138
Ilustración 33. Reconstrucción tridimensional del eje iliaco por angiografía por tomografía computarizada (CTA) iliaca.	139

1. RESUMEN.

1. RESUMEN.

1.1 RESUMEN.

Introducción.

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en nuestro medio. Su espectro clínico abarca la enfermedad arterial periférica (EAP), la enfermedad arterial coronaria (EAC) y la enfermedad cerebrovascular (EACV), siendo el sustrato etiológico de todas ellas la aterosclerosis. La aterosclerosis se caracteriza por la aparición de placas de ateroma en las arterias de mediano y gran calibre, proceso en el que intervienen la inflamación y calcificación. La forma más frecuente de aterosclerosis es la EAP, seguida de la EAC, siendo esta última la principal causa de muerte de estos pacientes.

En las últimas décadas, se han llevado a cabo importantes avances en el campo de la imagen cardiovascular. Entre estas innovaciones, el uso de la puntuación de calcio coronario ha ganado importancia como una herramienta valiosa para evaluar el riesgo de EAC. Este método no sólo permite cuantificar el grado de calcificación, sino también la carga aterosclerótica, proporcionando una herramienta muy útil para evaluar el riesgo cardiovascular con valor diagnóstico y sobre todo pronóstico.

La importancia de la puntuación del calcio se extiende más allá de las arterias coronarias. Con el auge de las técnicas de imagen integrales, la evaluación de la calcificación se ha extendido también a las arterias periféricas, incluidas las arterias ilíacas. Sin embargo, el vínculo potencial entre las puntuaciones de calcio en estos distintos territorios vasculares sigue sin explorarse.

Por otro lado, actualmente sabemos que el factor de riesgo más importante para la presencia de aterosclerosis es la predisposición genética individual. Se han estudiado múltiples polimorfismos que se asocian a aterosclerosis y calcificación vascular a distintos niveles.

Objetivos.

El objetivo de este estudio es investigar la correlación entre las puntuaciones de calcio de la arteria coronaria (CCS) y las puntuaciones de calcio de la arteria ilíaca (ICS), ambas medidas mediante el índice de Agatston. El estudio buscó explorar las posibles implicaciones de esta correlación para la evaluación del riesgo cardiovascular.

También tiene como objetivos secundarios investigar la posible relación entre la ICS y el grosor de la íntima media ilíaca (i-IMT) medido por tomografía computarizada (TC). Así como el estudio de marcadores genéticos asociados a la calcificación arterial iliaca.

Métodos.

Se empleó un diseño de investigación observacional transversal y unicéntrico. Los datos se recopilaron de registros médicos electrónicos, informes de imágenes y bases de datos clínicas, de pacientes sometidos a angiografía por tomografía computarizada (CTA) coronaria, aortica y de miembros inferiores. Los análisis estadísticos incluyeron el coeficiente de correlación de Pearson, modelos de regresión lineal, y análisis por subgrupos. Además se extrajo muestra de sangre de los pacientes del estudio con lo que se generó una genoteca y se realizó un estudio de casos y controles analizando la relación entre polimorfismos genéticos asociados a lípidos con la calcificación arterial iliaca.

Resultados.

Se reclutaron 49 pacientes (Edad media 66.3 años, y un 85.7% varones), todos ellos con EAP. Se obtuvo una correlación positiva estadísticamente significativa entre el ICS, y el CCS. El análisis de regresión lineal indicó que el ICS estaba asociado al CCS por método de Agatston, al i-IMT, y a factores de riesgo como la diabetes o la enfermedad renal. El análisis por subgrupos en pacientes diabéticos observó tendencias similares. Además se observó un

polimorfismo genético asociado a lípidos (rs10902661) que se asociaba de forma estadísticamente significativa a mayor calcificación arterial iliaca.

Conclusiones.

El estudio demostró una correlación positiva estadísticamente significativa entre las puntuaciones de calcio de la arteria coronaria (CCS) y la arteria ilíaca (ICS), lo que sugiere mecanismos subyacentes compartidos de calcificación vascular. Esta correlación podría revolucionar la evaluación de riesgo cardiovascular al ofrecer una herramienta predictiva adicional. El ICS se asocia también de forma significativa al i-IMT, y a factores de riesgo como la diabetes o la enfermedad renal. El subgrupo de pacientes diabéticos tiene resultados similares a los de la población general del estudio.

La incorporación de puntuaciones de calcio de la arteria ilíaca en los modelos de riesgo puede mejorar la estratificación del riesgo y personalizar el tratamiento de los pacientes. El estudio enfatiza el impacto potencial de la calcificación de la arteria ilíaca en la cardiología preventiva, aunque se necesitan más estudios para una mayor validación y comprensión de las implicaciones clínicas.

También se ha observado la asociación significativa de un polimorfismo genético asociado a lípidos (rs10902661) con mayor calcificación iliaca. Esto apoya el valor de esta herramienta, destaca la importancia de los marcadores genéticos, y podría tener aplicaciones clínicas en un futuro próximo.

1.2 ABSTRACT.

Introduction.

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in our countries. The clinical spectrum of cardiovascular diseases includes peripheral arterial disease (PAD), coronary artery disease (CAD) and cerebrovascular disease (CVD). The etiological substrate of all these diseases is atherosclerosis. Atherosclerosis is characterised by atheroma plaques in medium and large caliber arteries, a process in which inflammation and calcification are involved. The most common form of atherosclerosis is PAD, followed by CAD. CAD is the main cause of death in these patients.

Over the past few decades, significant advances have been made in medical imaging. Among these innovations, the use of calcium scoring has emerged as a valuable tool for assessing the risk of coronary artery disease (CAD). This method not only facilitated the quantification of the extent of calcification, but also allowed for the detection of atherosclerotic plaque burden, providing a cardiovascular risk assessment tool with established diagnostic and prognostic value.

The importance of calcium scoring extends beyond the coronary arteries. With the advent of comprehensive imaging techniques, the assessment of calcification has been extended to peripheral arteries as well, including the iliac arteries. However, the potential relationship between calcium scores in these different vascular territories remains underexplored.

On the other hand, we now know that the most important risk factor for the development of atherosclerosis is an individual's genetic predisposition. A large number of genetic polymorphisms associated with atherosclerosis and vascular calcification in different territories have been studied.

Objectives.

This study aimed to investigate the correlation between coronary artery calcium scores and iliac artery calcium scores, both measured by the Agatston index. The potential implications of this correlation for cardiovascular risk assessment should be explored.

The secondary objectives of this study are to investigate the possible relationship between ICS and iliac intima-media thickness (i-IMT) as measured by CT, and genetic markers associated with calcification of the iliac arteries.

Methods.

An observational cross-sectional, single-centre research design was used. Data were collected from electronic medical records, imaging reports, and clinical databases of patients undergoing coronary and aortic/lower extremity computed tomography angiography. Statistical analyses included Pearson's correlation coefficient, multiple linear regression models, and subgroup analyses. In addition, a case-control study was used to analyse the association between some genetic polymorphisms associated with lipids and iliac artery calcification.

Results.

The study included 49 patients (mean age: 66.3 years, 85.7% male), with peripheral arterial disease. Significant positive correlations were found between coronary and iliac artery calcium scores. Regression analysis showed that iliac artery calcium scores were associated with Agatston score, intima-media thickness, diabetes mellitus, chronic kidney disease, arterial hypertension and smoking habit. Subgroup analyses in patients with diabetes mellitus showed similar trends. In addition, a genetic polymorphism associated with lipids (rs10902661) was found to be statistically significantly associated with iliac artery calcification.

Conclusions.

The study showed a significant positive correlation between coronary and iliac artery calcium scores, suggesting shared common mechanisms of vascular calcification. This correlation may revolutionise risk assessment by providing an additional predictive tool. Iliac artery calcium score were also associated with Agatston score, intima-media thickness, diabetes mellitus, chronic kidney disease, arterial hypertension, and smoking habit. Similar trends were observed in subgroup analyses of patients with diabetes mellitus.

Incorporating iliac artery calcium scores into risk models may improve risk stratification and personalise treatment plans. The study highlights the potential impact of iliac artery calcification on preventive cardiology. However longitudinal studies are needed to further validate and understand the clinical implications.

A significant positive association was observed between a genetic polymorphism associated with lipids (rs10902661) and iliac artery calcification. This support the value of this tool, highlights the important of genetic markers and may have clinical application in the near future.

2. INTRODUCCIÓN.

2- INTRODUCCIÓN.

2.1 La enfermedad aterosclerótica.

a) Concepto e importancia.

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en nuestro medio, siendo hasta en un 30 % de los casos en forma de muerte súbita. Además es una de las principales causas de morbilidad y dependencia, con un alto porcentaje de ingresos hospitalarios (1,2,3). Todo ello con un alto coste económico que impacta en el sistema sanitario.

Con la perspectiva de cambios demográficos en las próximas décadas, en las que se espera un envejecimiento de la población, y un aumento de la esperanza de vida, se espera un aumento progresivo del número de casos (3,4).

Existe también una tendencia al aumento de determinados factores de riesgo en la población occidental, como la obesidad y la diabetes, que incide de forma directa en la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares (3,4).

Todo esto conllevará un aumento de la demanda sanitaria en relación a este grupo de enfermedades.

El espectro clínico de las enfermedades cardiovasculares abarca la enfermedad arterial periférica (EAP), la enfermedad coronaria (EAC) y la enfermedad vascular cerebral (EACV), siendo el sustrato etiológico de todas ellas la aterosclerosis (1,2).

La aterosclerosis se define como una patología caracterizada por la aparición de placas de ateroma en las arterias de mediano y gran calibre (1). Tiene una gran prevalencia y en muchos casos es asintomática. Se estima que la prevalencia de la aterosclerosis subclínica incluyendo

los tres territorios puede llegar hasta el 60% en personas de mediana edad, siendo superior al 70% en pacientes con factores de riesgo añadidos (2).

La EAP es la forma anatómico-clínica más frecuente de la aterosclerosis, seguida de la EAC, y por último la EACV. (2).

La EAP hace referencia a la obstrucción aguda o crónica de las arterias que irrigan las extremidades inferiores o superiores, que en caso de ser grave, produce isquemia distal y pérdida de tejido (1,2,5).

Según datos recientes, más de 35 millones de personas están afectadas por EAP en países europeos (3). La enfermedad aterosclerótica de este territorio tiene además un peor pronóstico. Uno de los motivos propuestos de esta peor evolución podría ser que el tratamiento médico y del estilo de vida es menos agresivo en este tipo de pacientes, así como un comportamiento plaquetario diferente en el territorio periférico (6). Además la EAP es un marcador de enfermedad aterosclerótica en otros territorios (7). De los pacientes que tiene EAP, hasta la mitad tienen EAC, y la mitad tienen EACV. Muchos de los pacientes que se intervienen por cirugía vascular por EAP presentan complicaciones coronarias durante el periodo perioperatorio (8, 9, 10).

La EAC es la segunda expresión más frecuente de la aterosclerosis, y es la principal causa de muerte de estos paciente. Y pese a que la mortalidad de los pacientes que consiguen llegar al hospital ha disminuido en las últimas décadas, gracias al tratamiento farmacológico y los procedimientos invasivos, la mortalidad prehospitalaria no se ha reducido de forma significativa (2).

La EAC hace referencia al estrechamiento u obstrucción, de las arterias coronarias por aterosclerosis, y es la principal causa de mortalidad de estos pacientes. Es también marcador de enfermedad arterial en otros territorios (hasta uno de cada 3 pacientes con EAC tienen EAP, y uno de cada 5 EACV) (9).

La EACV, produce una elevada morbilidad, y se define como el conjunto de trastornos vasculares, que conllevan una disminución del flujo sanguíneo cerebral. La mitad de estos pacientes tienen también EAC y uno de cada cuatro EAP (9).

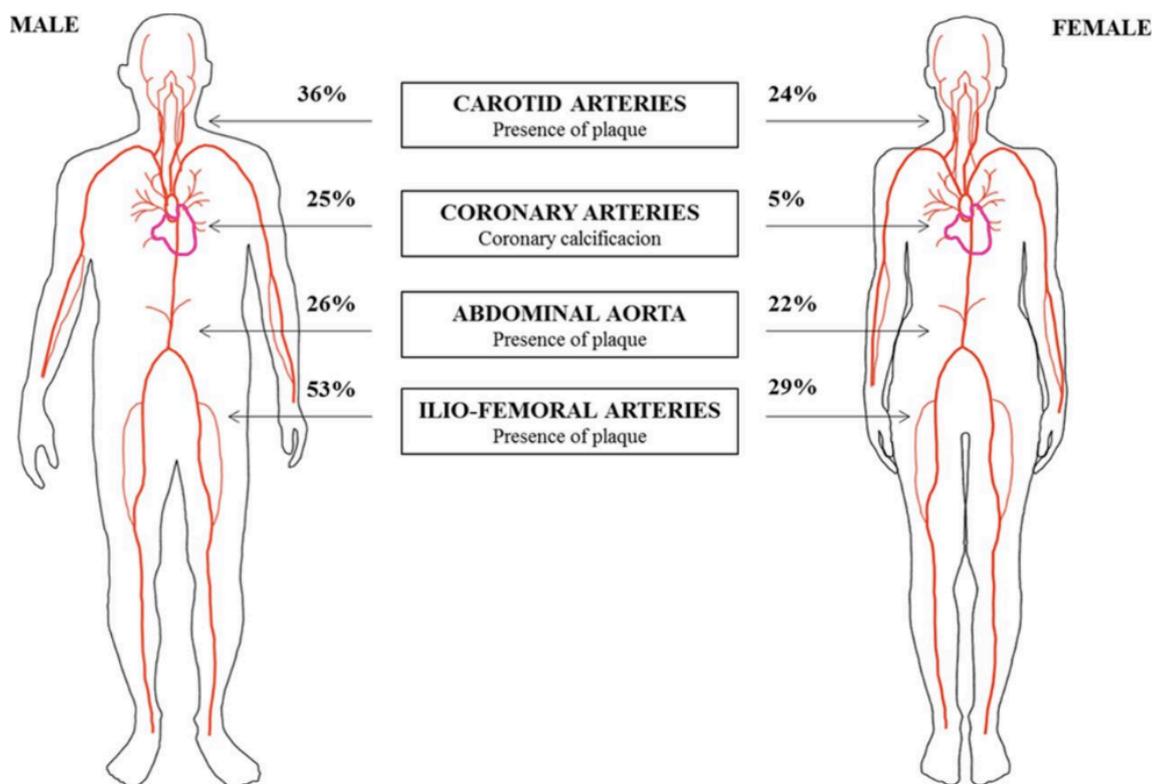


Ilustración 1. Prevalencia de aterosclerosis en difernetes territorios vasculares. Estudio PESA (3).

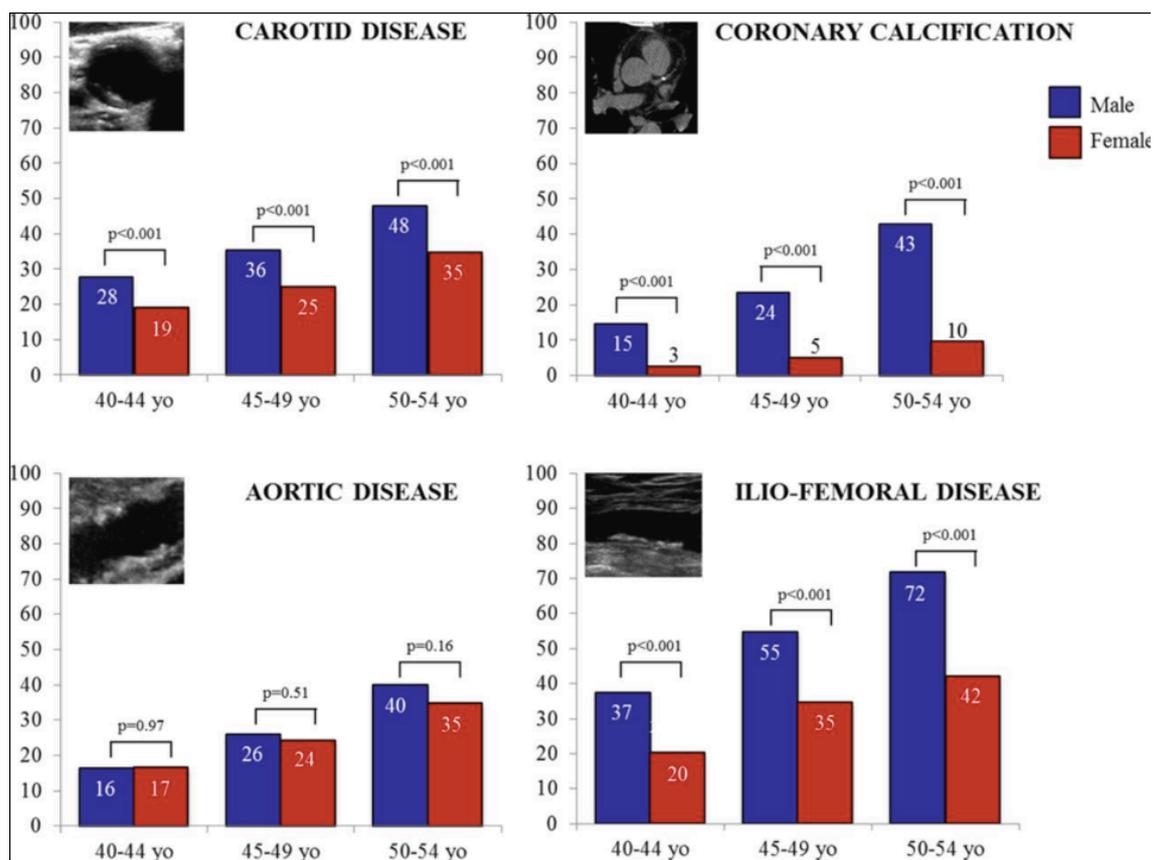


Ilustración 2. Prevalencia de aterosclerosis subclínica por edad y sexo en estudio PESA (3).

La enfermedad aterosclerótica es por tanto una enfermedad difusa y multisistémica con afectación de diferentes territorios, con una elevada morbimortalidad global.

Por todo esto es fundamental un diagnóstico precoz de esta enfermedad, y estimación del riesgo cardiovascular individual, incluso en fases asintomáticas, para prevención de eventos y mejoría del pronóstico de estos pacientes.

b) Etiología.

La aterosclerosis, como muchas otras, es una enfermedad multifactorial.

Clásicamente se han identificado factores de riesgo asociados a esta enfermedad, como son la dislipidemia, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, el tabaquismo, la obesidad y el sedentarismo (1).

Los factores de riesgo cardiovascular se pueden clasificar según nuestra capacidad para actuar en ellos:

- No modificables: son aquellos, contra los que no podemos actuar, como la predisposición genética, los antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura (en varones < 55 años, y mujeres < 60 años), la edad, o el sexo.
- Modificables: son aquellos en los que podemos actuar y controlar para reducir el riesgo cardiovascular global de estos pacientes, como son la dislipidemia, hipertensión arterial, diabetes mellitus, tabaquismo, obesidad y sedentarismo.

Además es sabido que otras situaciones clínicas aumentan de forma significativa el riesgo cardiovascular y que actúan como modificadores del riesgo individual, además de los factores de riesgo clásicos (11). Esto ha hecho que ya en las últimas guías de práctica clínica de la sociedad europea de cardiología de dislipemias (12), se añadan otros factores o marcadores de riesgo cardiovascular clínicos no convencionales.

Sabemos por ejemplo, que la enfermedad renal crónica, sea cual sea su etiología, aumenta significativamente el riesgo cardiovascular, y sitúa a estos pacientes como de alto o muy alto riesgo en función de su filtrado glomerular estimado (11).

Otros factores como la fibrilación auricular, la esteatosis hepática no alcohólica, el síndrome de apnea del sueño, factores psicosociales (exclusión social, estrés psicosocial y agotamiento vital, enfermedades psiquiátricas), y las enfermedades autoinmunes e inflamatorias así como

algunos tratamientos como los del VIH, han sido descritos, como factores que modifican el riesgo individual de eventos cardiovasculares (11).

Tabla 1. Factores de riesgo cardiovascular: modificables, no modificables y no convencionales (1).

No modificable	Modificables	No convencionales
Genética	Tabaco	Enfermedad renal
Edad	Hipertensión arterial	Esteatosis hepática
Sexo masculino	Dislipemias	SAHS
	Diabetes mellitus	Fibrilación auricular/ Insuficiencia cardiaca
	Sedentarismo	Psicosociales
	Obesidad	Inflamación/ Inmunidad
		Lipoproteína a (Lpa)

Tabaco.

A pesar del descenso en los últimos años de la prevalencia de consumo de tabaco en nuestro medio, de un 42% en los años 60, a en torno a un 15% en registros actuales, sigue siendo el factor de riesgo aislado más importante de enfermedad coronaria (13).

Se ha demostrado en diversos estudios prospectivos la fuerte asociación positiva entre la exposición al humo del tabaco y la cardiopatía isquémica, con una mayor mortalidad asociada a la misma, y esto aumenta con edad, y número total de cigarrillos fumados (14). Además se

relaciona con mayor riesgo de aneurisma de aorta, enfermedad arterial periférica e ictus isquémico y hemorrágico (14).

El tabaco tiene efectos sobre la presión arterial, por aumento del tono simpático, así como un descenso del aporte de oxígeno miocárdico (15). Además produce efectos sobre la hemostasia e inflamación como elevación de proteína C reactiva, moléculas de adhesión intercelular, fibrinógeno y homocisteína, con un aumento de la agregación plaquetaria espontánea (16, 17).

Hipertensión arterial.

Definida como presión arterial (PA) sistólica > 140mmHg, y/o PA diastólica > 90mmHg (1), la hipertensión arterial es uno de los principales factores de riesgo para la aterosclerosis (EAC, EACV y EAP), también para insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular y enfermedad renal crónica (18).

Tiene una prevalencia muy elevada en todo el mundo (se estima que hasta 1000 millones de personas en todo el mundo padecen hipertensión arterial) (19). Con el gasto sanitario que esto conlleva.

La hipertensión arterial mantenida produce daño endotelial directo que favorece la aparición de aterosclerosis (10, 21). Siendo el principal factor de riesgo en la EACV (21).

Colesterol LDL (c-LDL).

El colesterol LDL (c-LDL) es el factores de riesgo que más se vincula etiológicamente con los eventos coronarios y la mortalidad cardiovascular (22).

Desde hace décadas es conocido que las cifras de c-LDL son un factor clave en la aparición de aterosclerosis. Pero ha sido en los últimos años cuando se ha demostrado una relación causal directa entre las cifras de c-LDL, la aterosclerosis y los eventos cardiovasculares (23,24).

Hay estudios recientes en animales y estudios de aleatorización mendeliana que demuestran una relación causal entre las cifras elevadas de c-LDL y la aparición de la lesión

aterosclerótica. Las cifras de c-LDL desde edades tempranas de la vida se correlacionan con la presencia de aterosclerosis (25).

Los pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF) se sitúan en las últimas guías de dislipemias de la sociedad europea de cardiología (11), directamente como de alto o muy alto riesgo cardiovascular.

Además se ha comprobado que la reducción de los niveles de c-LDL con distintas intervenciones y fármacos, reducen de forma significativa los eventos cardiovasculares. Y hasta donde sabemos hoy en día, esto parece no tener límites, y cuanto más bajos sean los niveles de c-LDL, menor riesgo cardiovascular, sin haberse demostrado efecto en curva J, ni problemas significativos de seguridad, incluso por debajo de valores como 55mg/dl. La reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) es proporcional al valor absoluto de descenso del c-LDL, independientemente del tratamiento farmacológico empleado para su disminución (26). También sabemos que el beneficio absoluto depende del riesgo cardiovascular absoluto inicial y la reducción absoluta de c-LDL, por lo que incluso una pequeña reducción absoluta puede ser muy útil para un paciente de elevado riesgo (27).

Colesterol no-HDL.

El colesterol no-HDL se calcula de la siguiente forma: colesterol total - colesterol HDL. La relación entre el colesterol no-HDL y el riesgo de ECV es al menos tan fuerte como la relación con el c-LDL, y corresponde a la concentración plasmática de apolipoproteína B (28).

Colesterol HDL (c-HDL).

El colesterol HDL (c-HDL) está en relación inversa con el riesgo de ECV. Sin embargo, no hay evidencia de ensayos de aleatorización mendeliana o con inhibidores de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol de que concentraciones de c-HDL elevadas reduzcan el riesgo de ECV (29).

Triglicéridos.

La elevación de triglicéridos plasmáticos se ha asociado en estudios epidemiológicos recientes con mayor riesgo de eventos cardiovasculares de forma significativa (30,31). Estudios genéticos sugieren también la aportación causal de los triglicéridos a la aterosclerosis.

A pesar de que los estudios con fibratos no demostraron una disminución significativa de eventos cardiovasculares, los análisis de subgrupos indicaban un posible beneficio que había que seguir investigando (32,33).

Existe además una relación directa de los niveles de triglicéridos plasmáticos con otros factores de riesgo cardiovascular, como la diabetes, o niveles bajos de c-HDL, por lo que lo que debemos incluir su análisis en el estudio del riesgo cardiovascular.

En el reciente estudio REDUCE-IT (2019) (33), se ha demostrado el beneficio sobre la morbimortalidad de un ácido omega 3, en pacientes con alto o muy alto riesgo cardiovascular. Aunque es el primer ensayo clínico aleatorizado con resultados en este sentido, y los resultados son prometedores, posiblemente sea necesaria más investigación en esta línea.

Diabetes mellitus.

La resistencia a la insulina y la diabetes es otro de los principales factores de riesgo cardiovascular (1,2).

Se ha demostrado que la hiperglucemia produce un aumento de productos terminales de la glicosilación, que conlleva un daño endotelial vascular, favoreciendo una mayor adhesión leucocitaria en dicho endotelio y favoreciendo la formación de placas de ateroma (34). Además se produce un aumento de biomarcadores inflamatorios, y alteraciones en la fibrinólisis endógena, así como alteración de la vasodilatación endotelial mediada por óxido nítrico.

Su asociación con el llamado síndrome metabólico, que conlleva intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, niveles bajos de c-HDL, c-LDL pequeño y denso, y obesidad central, se asocia también a mayor riesgo de eventos cardiovasculares (35).

Además la presencia de nefropatía diabética con microalbuminuria potencia este aumento del riesgo (35).

Sedentarismo.

La mayor parte de los adultos mayores de 18 años no cumple la actividad física recomendada por la sociedades médicas (al menos 150 minutos de ejercicio físico al menos moderado, a la semana). Se sabe que la actividad física reduce las tasas de morbimortalidad cardiovascular, y mortalidad global (36). Por tanto, este porcentaje de población que no realiza la actividad física recomendada supone un factor de riesgo muy prevalente. Hay estudios que indican que la conducta sedentaria del individuo puede constituir un factor de riesgo independiente (36). A parte de su asociación con obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus.

Obesidad.

Definida como un índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 30 kg/m² de superficie corporal, es un enfermedad cuya prevalencia está aumentando de forma exponencial en nuestros días, y es un creciente problema de salud pública en todo e mundo, tanto en población adulta como infantil (36).

Se ha demostrado que la obesidad aumenta la morbimortalidad, con un elevado coste médico.

Se ha cuestionado si es un factor de riesgo independiente de su relación con otros factores de riesgo cardiovascular, sin embargo sabemos que la obesidad en la edad media de la vida se correlaciona con mayor tasa de hospitalización y complicaciones de la cardiopatía isquémica (37-40).

Edad.

La edad es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular no modificables (41). Las mujeres menores de 50 años y los varones menores de 40 son en general población de bajo riesgo de eventos cardiovasculares a 10 años. Sin embargo pueden presentar factores de riesgo modificables que aumenten su riesgo cardiovascular individual. En el caso de varones mayores de 65 años o mujeres mayores de 75, conlleva generalmente un elevado riesgo a 10 años, aunque esto también es modificable por otros factores y marcadores de riesgo (1,2).

Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular y su asociación a aterosclerosis en distintos territorios en la población del registro REACH (4).

	TOTAL	SINTOMATICO	EAC	EACV	EAP
EDAD MEDIA	68.5	68.4	68.3	69.4	69.2
VARONES	63.7%	66.9%	69.8%	59.5%	70.7%
DIABETES MELLITUS	44.3%	37%	38.3%	37.4%	44.2%
HIPERTENSIÓN ARTERIAL	81.8%	80%	80.3%	83.3%	81%
DISLIPEMIA	72.4%	70.2%	77%	58.2%	66.7%
OBESIDAD	46.6%	44%	45%	42.6%	44.1%
TABAQUISMO	41.6%	44.6%	47.1%	38.6%	50.9%

Los factores de riesgo acumulados en cada individuo, aumentan su riesgo cardiovascular individual y afectan a los diferentes territorios vasculares.

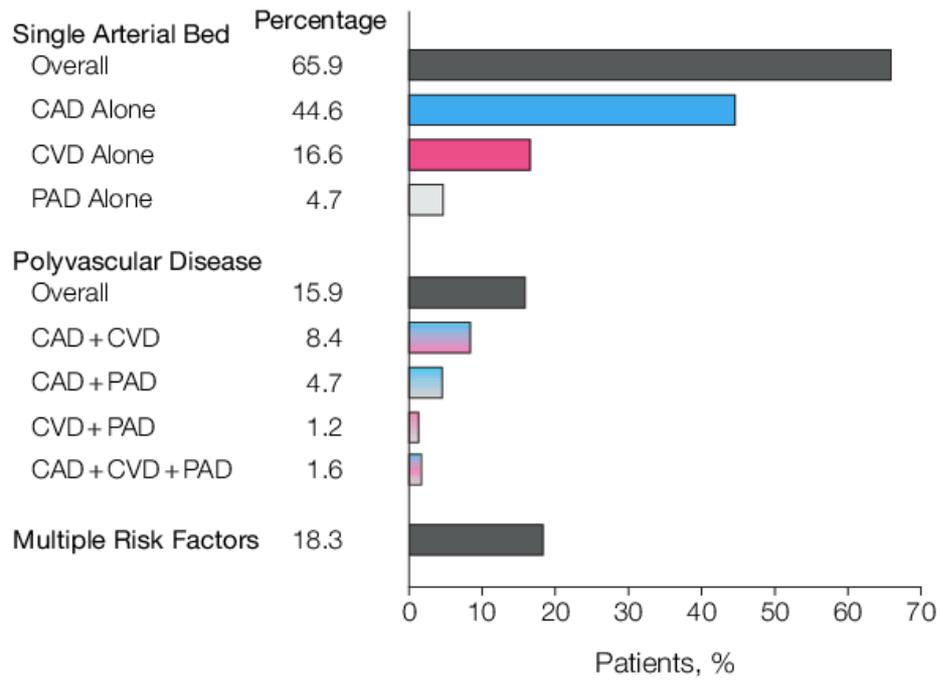


Ilustración 3. Prevalencia de la enfermedad vascular en diferentes territorios, registro REACH (4).

c) Fisiopatología e historia natural de la enfermedad.

Desde un punto de vista fisiopatológico en las enfermedades vasculares subyace el deterioro de la pared del vaso. Este deterioro anatomofuncional tiene su expresión en la aterosclerosis (1,2, 42), que es un proceso inflamatorio crónico y sistémico que afecta a las arterias de mediano y gran calibre de diferentes lechos vasculares (1, 2, 42).

Una arteria normal sana, está compuesta por células endoteliales, y células musculares lisas principalmente (1, 2, 42).

Las células endoteliales se encuentran en la denominada capa íntima de la arteria, y forman la superficie que está en contacto directo con la sangre. Mediante la expresión de moléculas en superficie, estas células tienen propiedades homeostáticas que permiten que la sangre se mantenga líquida a su contacto con estas, evitando la formación de trombos. Además tienen una función de barrera, evitando el paso de sustancias a la pared vascular.

Las células musculares lisas a su vez, se encuentran en la capa media del vaso, y tienen un papel de regulación del flujo sanguíneo mediante su contracción y relajación, además de la síntesis de la matriz extracelular.

En las arterias de mediano y gran calibre se distinguen tres capas (1,2, 42):

- La túnica íntima: formada por una capa de células endoteliales, que se encuentra sobre una membrana basal formada por colágeno y otras moléculas. La lamina elástica interna, la separa de la túnica media.
- La túnica media: se encuentra bajo la túnica íntima, y está formada por células musculares, que se disponen de una forma más o menos concéntrica y estructurada, según sean arterias de gran o medio calibre. Estas células se encuentran en una matriz que ellas mismas sintetizan. La lamina elástica externa la separa de la adventicia.

- La túnica adventicia: es la capa más externa de las arterias y está formada por fibras de colágeno, y algunos componentes celulares como fibroblastos y mastocitos. A esta túnica es a la que llegan los *vasa vasorum* y terminaciones nerviosas.

Sobre esta arteria sana, desde etapas muy precoces de la vida comienza el proceso de aterosclerosis. Este proceso se caracteriza por el engrosamiento de la capa íntima y media con pérdida de la elasticidad, por el depósito de lípidos en una zona de disfunción endotelial. Su lesión básica es la placa de ateroma, compuesta fundamentalmente de lípidos en el núcleo, rodeados de tejido fibroso, con células inflamatorias y depósitos de calcio (42).

Se trata de un proceso complejo, no del todo conocido en el que influyen factores genéticos y ambientales, que comienza en los primeros años de la vida (infancia y adolescencia) y se desarrolla de forma progresiva hasta la aparición de los primeros síntomas isquémicos en edades más avanzadas, debidos a obstrucción, rotura de placa y formación de trombo, o formación de aneurismas, y disecciones por debilidad de la pared.

Los eventos agudos se producen cuando ocurre la rotura de una placa vulnerable (normalmente con gran núcleo lipídico y una capa fibrosa fina) y esto desemboca en una trombosis oclusiva (42).

Abarca un amplio espectro de eventos proinflamatorios y protrombóticos que afectan al endotelio. La disfunción mitocondrial, y el propio genoma que es susceptible de dañarse y alterar genes responsables de reparar el ácido desoxirribonucleico (ADN), contribuyen al desarrollo de aterosclerosis y disfunción vascular (43).

Todos este proceso culmina en lesiones irreversibles, susceptibles de condicionar el espectro clínico que abarca la EAP, la EAC y la EACV. Constituyendo un proceso de enfermedad activa y en evolución en el que hay constantes roturas de placa, con procesos de cicatrización

adecuada, sin que llegue a haber eventos clínico, y otros de trombosis, que dan lugar al evento clínico. Por tanto a más cantidad de placa mayor riesgo de eventos (43).

Inicio de la aterosclerosis.

Con la exposición continuada del endotelio a los factores de riesgo y según la predisposición genética individual, se acaba produciendo disfunción endotelial, que produce un aumento de la permeabilidad de la capa de células endoteliales. Las pequeñas partículas de lipoproteínas circulantes, comienzan, a acumularse en la túnica íntima, oxidándose y favoreciendo a su vez más disfunción endotelial, y estimulando una respuesta inflamatoria (42,43).

Esta respuesta inflamatoria esta mediada por monocitos y linfocitos T que se adhieren a la pared endotelial y se infiltran hacia la íntima. Los monocitos se activan y se transforman en macrófagos que fagocitan las partículas oxidadas de LDL, transformándose en las llamadas células espumosas. Estas células sufren apoptosis, generando detritus celulares, con un aumento de la disfunción endotelial y de la inflamación mediada por citosinas.

Este proceso es más frecuente en zonas de bifurcación donde el estrés hidrodinámico es mayor.

Esto da lugar a lo que llamamos estría grasa, que no protruye en la luz de la arteria.

Este proceso estimula a su vez la migración de las células musculares lisas hacia la túnica íntima, donde comienzan a producir colágeno para intentar reparar el daño, y esto produce una protrusión en la luz del vaso, a lo que denominamos placa de ateroma. La muerte celular acelerada de estas células musculares lisas también contribuye a perpetuar la inflamación.

Durante el inicio de la formación de la placa de ateroma, el crecimiento que ocurre en dirección contraria a la luz del vaso puede generar un aumento del calibre total de la arteria (remodelado positivo).

Además durante este proceso de migración se puede generar neo microcirculación mediada por factores de crecimiento, que podría ser clave en el mantenimiento del proceso (43,44, 45).

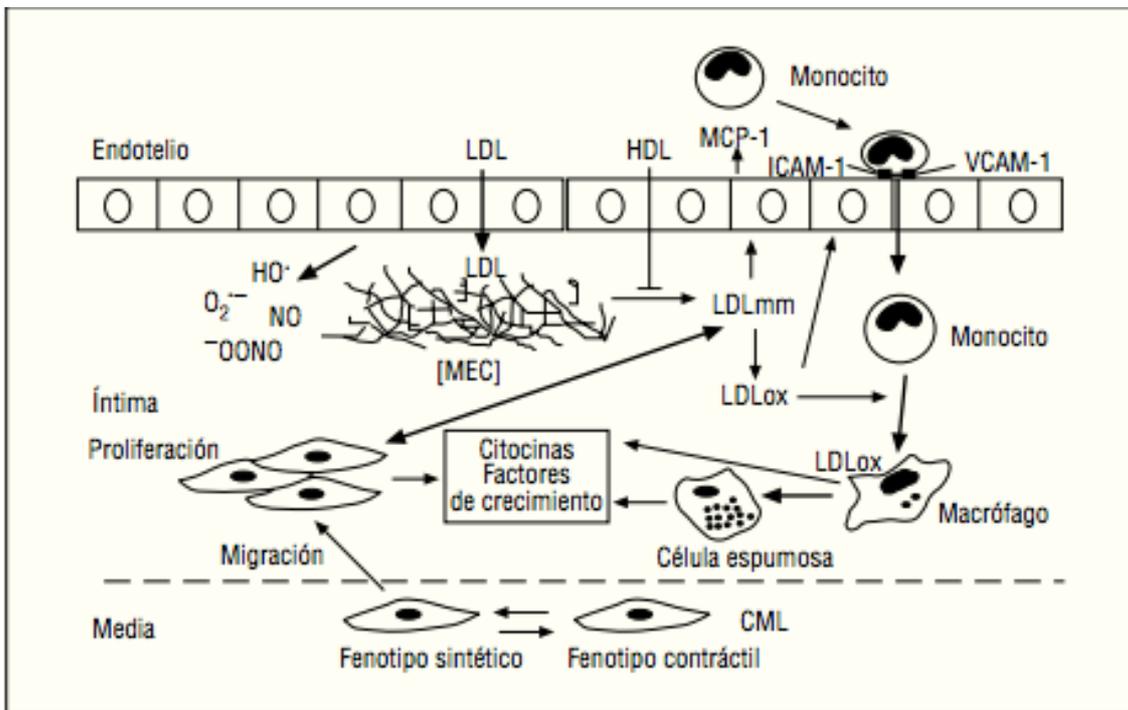


Ilustración 4. Esquema clásico del inicio de la formación de una placa aterosclerótica (42).

Calcificación de la placa.

La calcificación es una característica frecuente y de aparición temprana de la placa de ateroma, que casi siempre indica la presencia de aterosclerosis cuando lo encontramos en las arterias (como las arterias coronarias) (46).

Ha habido un interés creciente en investigar los potenciales mecanismos moleculares, celulares y genéticos implicados en este proceso de calcificación (46).

Múltiples estudios han demostrado importantes paralelismos entre la calcificación en las placas de aterosclerosis y la osteogénesis. Múltiples células, proteínas y citoquinas involucradas en la formación de hueso, han sido encontradas en la pared arterial (45,46,47).

Virchow (41) ya describió un proceso similar a la osteogénesis en las placas de aterosclerosis.

La calcificación es por tanto un proceso clave durante el desarrollo de lesiones ateroscleróticas. Este proceso involucra células de tipo osteoblasto y proteínas morfogenéticas óseas, que comienzan a acumularse en el núcleo lipídico de la placa de ateroma (47).

Se han descrito distintos tipos de calcificación del tejido vascular (47).

1. Por un lado la calcificación valvular bien conocida por todos en el proceso de degeneración de las válvulas cardíacas.

2. En cuanto a la calcificación de las arterias existe una distinción en dos tipos clínica e histológicamente diferenciados:

- La calcificación de Monckeberg o calcificación de la túnica media de las arterias está asociada a alteraciones del medio interno, metabólicas, hidroelectrolíticas o del pH, frecuentemente asociadas a enfermedad renal crónica, hipervitaminosis D o diabetes

mellitus. En general la calcificación de la capa media afecta a arterias que son menos propensas a desarrollar aterosclerosis como las arterias viscerales abdominales, pero hasta la fecha no ha sido descrita en las arterias coronarias (47, 48).

- La calcificación de la capa íntima arterial, está asociada a aterosclerosis y es un predictor de eventos cardiovasculares. Se han evidenciado al menos dos patrones distintos de calcificación de la capa íntima:
 - Áreas punteadas de calcificación en la región basal de la íntima, adyacente a la capa media. Incluso se ha descrito metaplasia ósea. Células similares a condrocitos, o a osteoblastos, y células multinucleadas como osteoclastos, pueden estar presentes (47, 48).
 - El segundo patrón de calcificación es difuso y puede no ser evidente. Se puede observar en prácticamente todas las áreas de la íntima y es menos probable detectarlo en radiología o pruebas de imagen (47, 48).

Se han propuesto muchos modelos para explicar el proceso de calcificación de la capa íntima: un modelo de proceso activo en el que hay formación de materiales similar al hueso, un modelo fisicoquímico, y un modelo con células similares a osteoclastos. Estos modelos no son excluyentes, y son probablemente complementarios.

- La primera teoría descrita se basa en que hay un aumento de expresión de numerosas proteínas relacionadas con la formación ósea en la placa de aterosclerosis, particularmente en las zonas de la placa donde ocurre la calcificación. Está involucrado en el proceso el reclutamiento y diferenciación de células similares a osteoblastos. También se ha propuesto un papel de la osificación endocondral a través del cartílago como intermediario en el tejido vascular (48).

- El modelo fisicoquímico, propuesto por Vermeer et al. (49), propone que existen inhibidores arteriales para la precipitación del calcio, en parte por quelación del ion calcio. Varias proteínas que podrían modular la precipitación del calcio en el fluido extracelular contienen residuos de aminoácidos de ácido carboxiglutaámico (Gla), que puede quelar los iones de calcio. También incluyen proteínas óseas como las proteínas Gla de matriz (MGP). Numerosos estudios han demostrado que las MGP previenen la precipitación de calcio en las arterias. La calcificación podría ocurrir cuando MGP y posiblemente otras proteínas quelantes e inhibidoras, no son incapaces de evitar que la concentración iónica en el líquido extracelular aumente hasta precipitar. La osteopontina es otra proteína de matriz ósea que regula el proceso de calcificación. Es producida por las células musculares lisas, y se asocia con aterosclerosis. Estudios in vivo, en ratones sugieren que la osteopontina inhibe el proceso de calcificación vascular (49). Cuando esta proteína no funciona correctamente, podría favorecer la este proceso.
- El tercer modelo se basa en que la formación de hueso por osteoblastos es compensada con la reabsorción mineral realizada por los osteoclastos, y este proceso está regulado y sincronizado de tal manera que hay poco cambio de la masa ósea total. Se han encontrado en tejido vascular células similares a osteoclastos que podrían inhibir la calcificación arterial (50). Cuando estas células, no realizan su función adecuadamente, participarían en el proceso de la calcificación arterial.

Posiblemente los tres mecanismos descritos, y muchos otros están involucrados en el proceso de calcificación vascular.

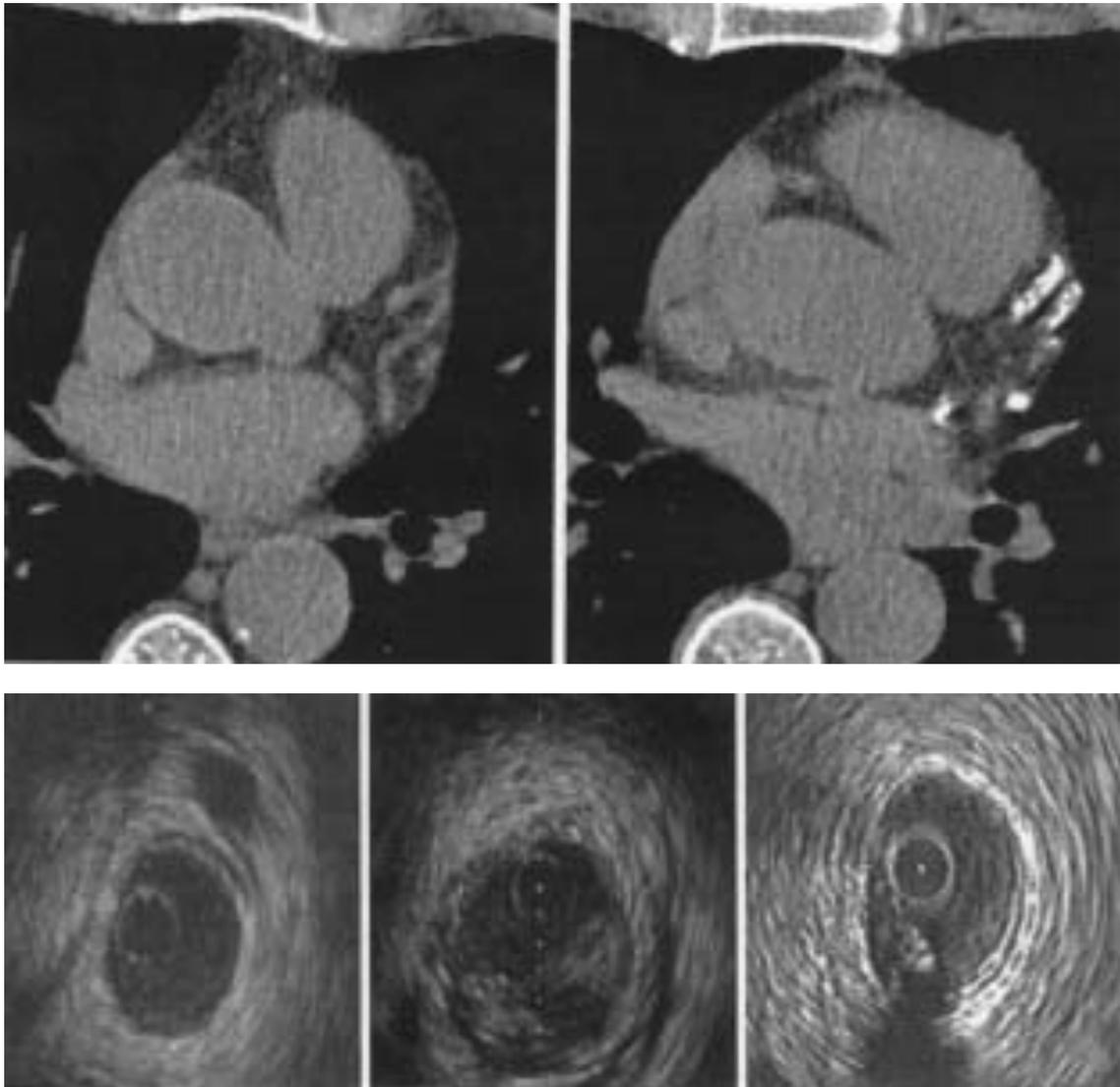


Ilustración 5. Imágenes de tomografía computarizada e imágenes de ultrasonido intracoronario (IVUS) de calcificación coronaria (50).

Inflamación, calcificación y aterosclerosis.

La inflamación tiene una función decisiva en la patogénesis de la calcificación aterosclerótica. Los experimentos in vitro con cultivos de células vasculares han demostrado que las citocinas que actúan como estímulos aterogénicos, promueven la osteogénesis y la calcificación de la matriz (45, 46). También se ha demostrado que las arterias calcificadas expresan proteínas de la matriz ósea y factores reguladores, como la osteopontina, la osteonectina, la osteocalcina o la proteína-2 morfogénica ósea (45-47).

El vínculo entre la inflamación, la aterosclerosis y la calcificación ha sido bien demostrado (45-47); sin embargo, la relación causa-consecuencia entre la calcificación y la aterosclerosis no se ha aclarado por completo. Actualmente se presume que la mineralización vascular puede iniciar, promover y luego desarrollar un proceso aterosclerótico a través de vías inflamatorias que actúan a nivel de los monocitos. A su vez, la inflamación activada y la expresión de citocinas conducen a una mayor absorción de cristales de hidroxapatita, la acumulación de células necróticas que liberan fosfatos y fosfatidilserinas, y la precipitación de partículas de fosfato de calcio (46). Al mismo tiempo, los mediadores inflamatorios inducen la diferenciación osteogénica de las células musculares lisas vasculares, favoreciendo así la progresión de la calcificación a nivel de placas de ateroma (47).

La mineralización vascular comienza con la aparición de micronódulos calcificados que crecen, se acumulan y se unen generando macrocalcificaciones (45). Las microcalcificaciones deben diferenciarse de las macrocalcificaciones, ya que son procesos distintos que ocurren en la pared vascular. Si bien se asume que las macrocalcificaciones confieren estabilidad a una placa ateromatosa, al protegerla de la rotura, las microcalcificaciones se asocian con placas coronarias vulnerables y de alto riesgo, que son propensas a la rotura (45).

Se ha demostrado la relación de los niveles séricos de proteína C reactiva ultrasensible (hsCRP), un poderoso indicador de inflamación, con una mayor calcificación arterial, lo que demuestra una correlación positiva entre el proceso aterosclerótico e inflamatorio (51). Así

como otros marcadores de inflamación como la concentración de microvesículas circulantes (cMV) cuantificadas por citometría de flujo se han relacionado con la composición de la placa aterosclerótica y el CCS en pacientes con HF heterocigota (51).

Expresión clínica de la aterosclerosis.

Estenosis arterial.

Durante la mayor parte del proceso aterosclerótico la persona suele permanecer asintomática. Tras el remodelado positivo que suele ocurrir en fases iniciales, las placas de ateroma protruyen en la luz del vaso sanguíneo. Esto no suele producir síntomas hasta que la obstrucción a la luz del vaso supera el 60%. Es entonces, cuando en situaciones con aumento de la demanda metabólica del tejido irrigado por dicho vaso, se pueden producir síntomas, dependiendo del territorio vascular afecto (angina de pecho estable o claudicación de extremidades inferiores) (1,2).



Ilustración 6. Microfotografía de una placa de ateroma (lesion tipo IV) en arteria descendente anterior proximal (43). Núcleo (Core) en la capa musculoelástica. Entre el núcleo y el endotelio se observan macrófagos y células espumosas (fc). Adventicia (A). Media (A)

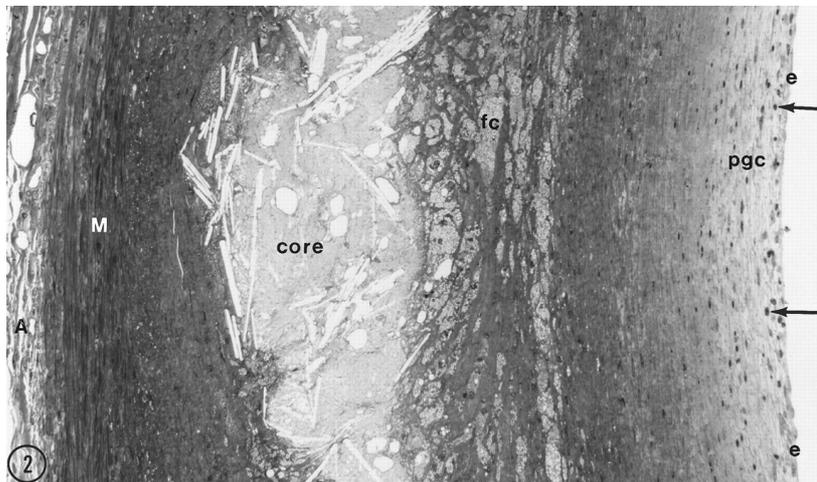


Ilustración 7. Microfotografía aumentada de una placa de ateroma (lesion tipo IV) en arteria coronaria (43). Núcleo lipídico con cristales de colesterol (Core). Células espumosas (fc). Macrófagos (flechas). Proteoglicanos (pgc). Endotelio (e). Adventicia (A). Media (m). Rotura de placa y trombosis.

La mayor parte de los eventos agudos, como los infartos de miocardio, suelen ocurrir en pacientes sin síntomas previos. Son resultado de la trombosis aguda del vaso, secundaria en la mayor parte de los casos a la rotura o erosión de una placa de ateroma. Como la mayoría de las placas de ateroma no producen estenosis críticas, la mayoría de los infartos provienen de lesiones que no producen obstrucción severa, y por tanto que no producen síntomas previos.

En la mayoría de los casos las roturas de las placas de ateroma no provocan eventos clínicos, sino que se produce la cicatrización de la placa y no se produce trombosis oclusiva. Sin embargo, algunas de estas roturas sí van a producir la formación de un trombo oclusivo de la luz del vaso, y son los que van a producir eventos clínicos.

Por tanto a mayor cantidad de placas de ateroma o de carga total de aterosclerosis, habrá más roturas de placa y mayor probabilidad de que alguna de ellas vaya a producir eventos clínicos (1,2).

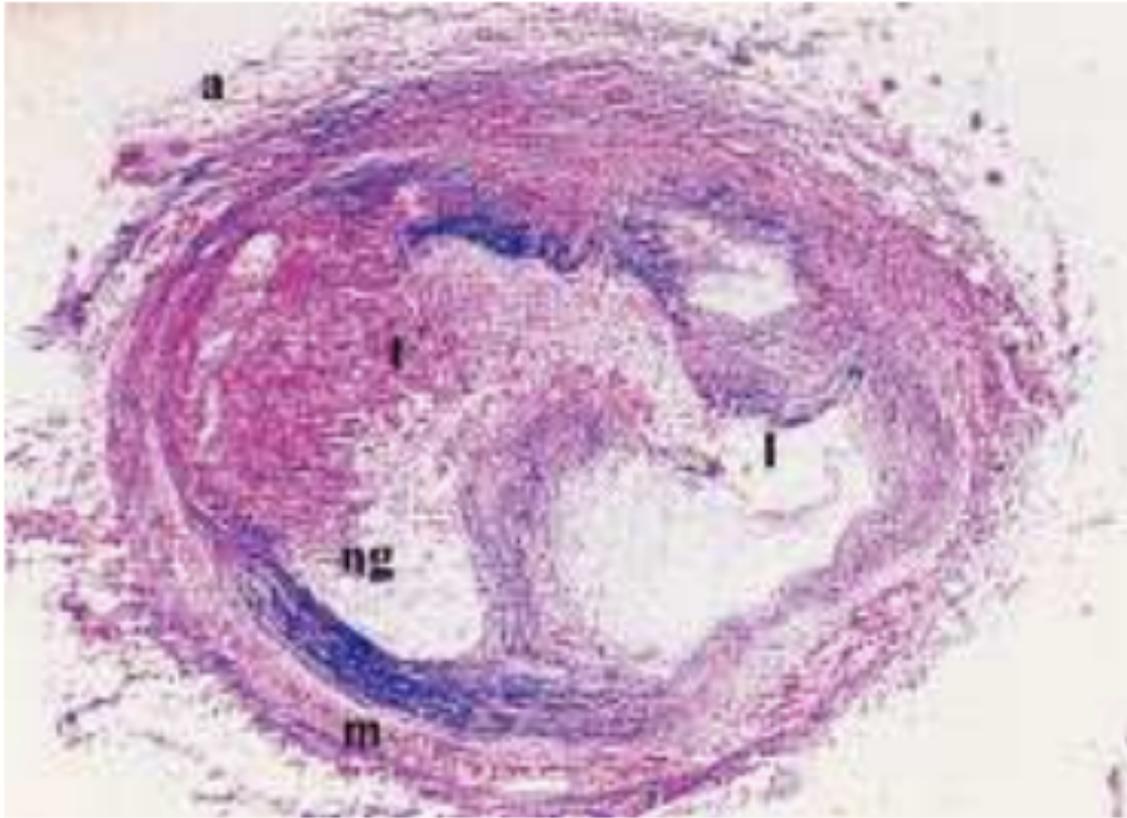
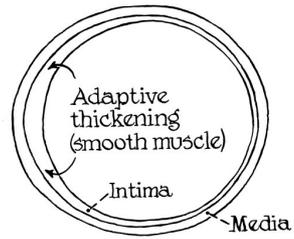


Ilustración 8. Microfotografía de sección de arteria coronaria con placa avanzada (Lesión tipo VI). Núcleo lipídico (ng) y gran cantidad de matriz extracelular, que contribuye a obstruir la luz del vaso. Adventicia (a). Lumen (l). Media (n). Trombo (t) (44).

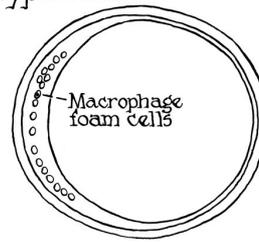
Tabla 3. Clasificación histológica de las lesiones ateroscleróticas. Tomada de Stary HC et al. (42).

Lesión tipo I	Lesión mínima (temprana)
Lesión tipo IIa	Estría grasa inicial
Lesión tipo IIb	Estría grasa estable
Lesión tipo III	Preateroma (lesión intermedia)
Lesión tipo IV	Ateroma
Lesión tipo V	Fibroateroma
Lesión tipo VI	Lesión complicada (hematoma, trombosis)
Lesión tipo VII	Placa calcificada
Lesión tipo VIII	Placa fibrosa

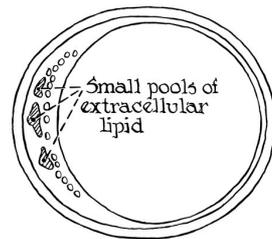
Coronary artery at lesion-prone location



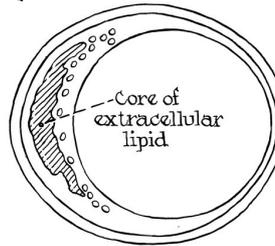
Type II lesion



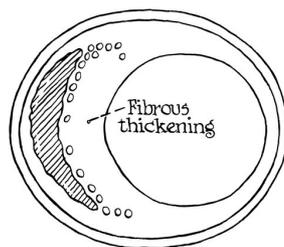
Type III (preatheroma)



Type IV (atheroma)



Type V (fibroatheroma)



Type VI (complicated lesion)

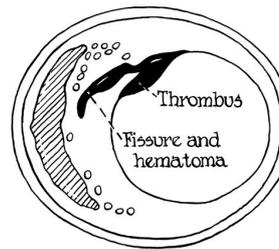


Ilustración 9. Dibujo de secciones transversales de arterias coronarias. Clasificación de lesiones ateroscleróticas (43).

d) Aproximación diagnóstica.

- **Funciones y tablas de riesgo cardiovascular.**

Como se ha expuesto previamente la enfermedad aterosclerótica en los diferentes territorios vasculares comienza en edades muy tempranas de la vida, y tiene un periodo muy prolongado en el que cursa de forma asintomática (3). Además en un alto porcentaje de pacientes el primer evento tiene graves consecuencias en morbimortalidad.

Por este motivo en personas asintomáticas de la población general, es recomendable hacer una aproximación del riesgo cardiovascular individual, para realizar intervenciones en prevención primaria (antes de que ocurra un evento) (52, 53).

Este cálculo de riesgo absoluto individual es fundamental para identificar a los pacientes de alto riesgo, que requieren intervención intensivas y precoces; además sirve para motivar del cumplimiento de las medidas de estilo de vida y farmacológicas, y para decidir el momento de inicio de tratamiento farmacológico y establecer objetivos más o menos estrictos.

Para realizar esta estimación, durante las últimas décadas se han utilizado funciones de riesgo cardiovascular, que permiten crear tablas mediante las cuales clasificar a los individuos (54-71).

Estas tablas de riesgo son métodos de estimación, basados en funciones matemáticas del riesgo de los individuos de distintas cohortes de poblaciones. Esto permite estimar el exceso de riesgo individual respecto del promedio de esa población. A partir de la información sobre la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en la población, se establece un algoritmo matemático que permite obtener el porcentaje de participantes con cada combinación de factores que desarrollan un acontecimiento a 10 años.

Para su cálculo, la mayoría de los grupos de trabajo ha utilizado las estimaciones que provienen del estudio de Framingham (41). Este estudio es el trabajo más importante, con más años de seguimiento y que más información ha proporcionado, sobre los factores riesgo, y su papel en la predicción de eventos cardiovasculares. Si bien es cierto que tiene sus limitaciones, principalmente porque la prevalencia de eventos en la población Framingham no tiene por qué ser igual al de otras poblaciones.

El punto de partida para la creación de las funciones de Framingham fue la estimación del riesgo atribuible a los factores de riesgo clásicos para cardiopatía isquémica en esa población.

Los factores de riesgo que más se han asociado a la enfermedad coronaria son la edad, el sexo, el perfil lipídico, la presión arterial, la intolerancia a la glucosa, y el tabaquismo. En el caso de la EACV tiene más importancia la hipertensión arterial, y en la EAP el tabaquismo, y la intolerancia a la glucosa. Todo esto también varía en función de las regiones geográficas (54,55). En la Ilustración 10, podemos ver los principales factores de riesgo y cómo influyen en la enfermedad vascular en cada territorio en nuestro país (54).

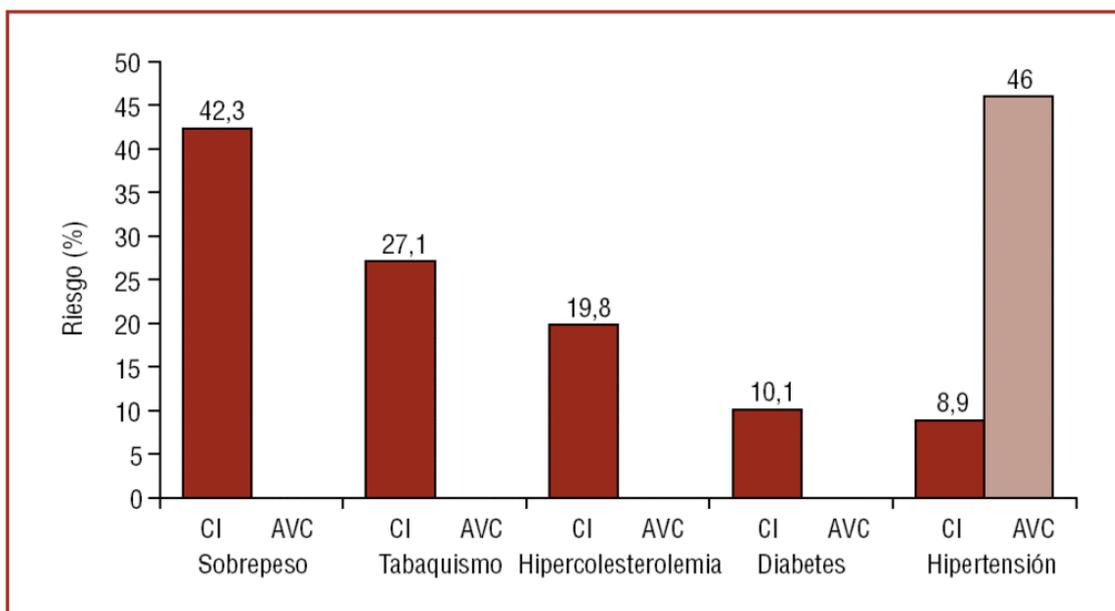


Ilustración 10. Riesgo atribuible poblacional de cardiopatía isquémica (CI) y enfermedad vascular cerebral (ACV) para los cinco factores de riesgo cardiovascular clásicos en España (54).

En 1990 se publicó la primera versión de la función de Framingham. Sin embargo se objetivó la sobrestimación frecuente en el cálculo del riesgo en diferentes países, entre ellos España. Esto desencadenó el estudio REGICOR (Registre Gironí del Cor), diseñado para adaptar esta herramienta a la población española (63).

Posteriormente el proyecto SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) (69) creó una función de riesgo a partir del seguimiento de 200.000 personas de 12 cohortes de 11 países europeos durante 10 años. Estas nuevas tablas de riesgo se publicaron en 2003, y cuentan con una tabla para países de baja incidencia. En los años posteriores estas tablas se han ido modificando y perfeccionando.

Actualmente para estimar el riesgo cardiovascular individual en personas sin diagnóstico de enfermedad aterosclerótica establecida, en las guías de práctica de la sociedad europea de cardiología de prevención cardiovascular (2021) se utilizan tablas de estimación de riesgo

conocidas como: *Systemic Coronary Risk Estimation*(SCORE) para estimar el riesgo de muerte por ECV a 10 años (68).

Estas tablas estiman el riesgo a 10 años de eventos cardiovasculares mortales y no mortales (infarto de miocardio, ictus) de personas de 40-69 años con factores de riesgo sin tratar o que han estado estables durante varios años.

Además recientemente también se ha creado una tabla específica con consideraciones especiales para personas ancianas (SCORE2-OP), teniendo en cuenta las características distintivas de esta población, que estima eventos cardiovasculares mortales o no, a 5 y 10 años en personas aparentemente sanas de ≥ 70 años (69).

Estas tablas están calibradas para 4 grupos de países (riesgo cardiovascular bajo, moderado, alto y muy alto) siguiendo las tasas de mortalidad cardiovascular publicadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). No siendo aplicables a pacientes con enfermedad aterosclerótica conocida, o factores de alto riesgo, como diabetes, dislipemias familiares, o enfermedad renal crónica.

Para realizar la estimación en una persona, inicialmente se clasifica según su país, posteriormente según su sexo, tabaquismo (o no) y su edad. Y por último se miran sus cifras de tensión arterial y niveles de colesterol no-HDL.

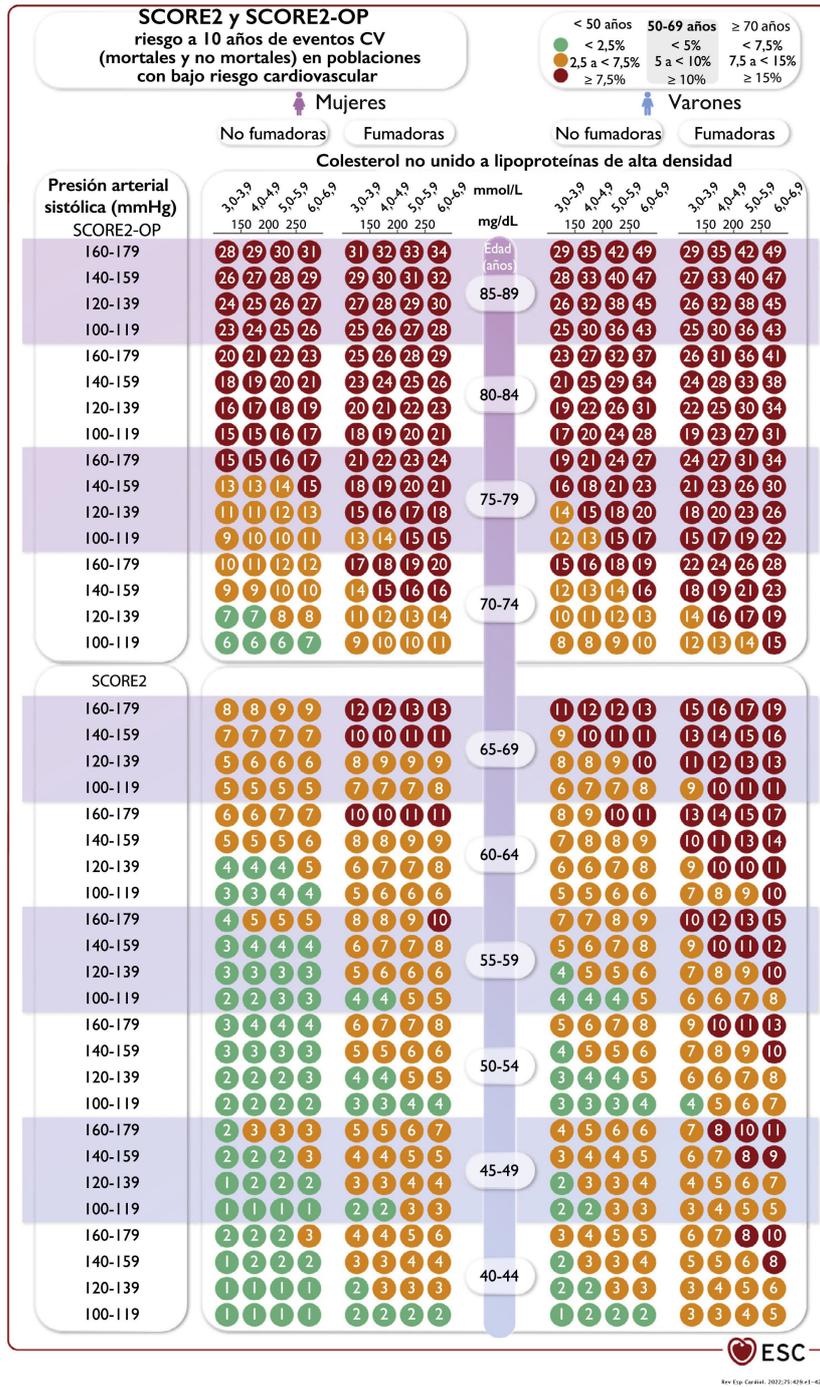


Ilustración 11. Systemic Coronary Risk Estimation (SCORE) para estimar el riesgo de muerte cardiovascular a 10 años, en poblaciones de bajo riesgo cardiovascular como la nuestra (53).

Estas tablas SCORE están ajustadas por las tasas de mortalidad cardiovascular de cada región geográfica según las Organización Mundial de la Salud (OMS).

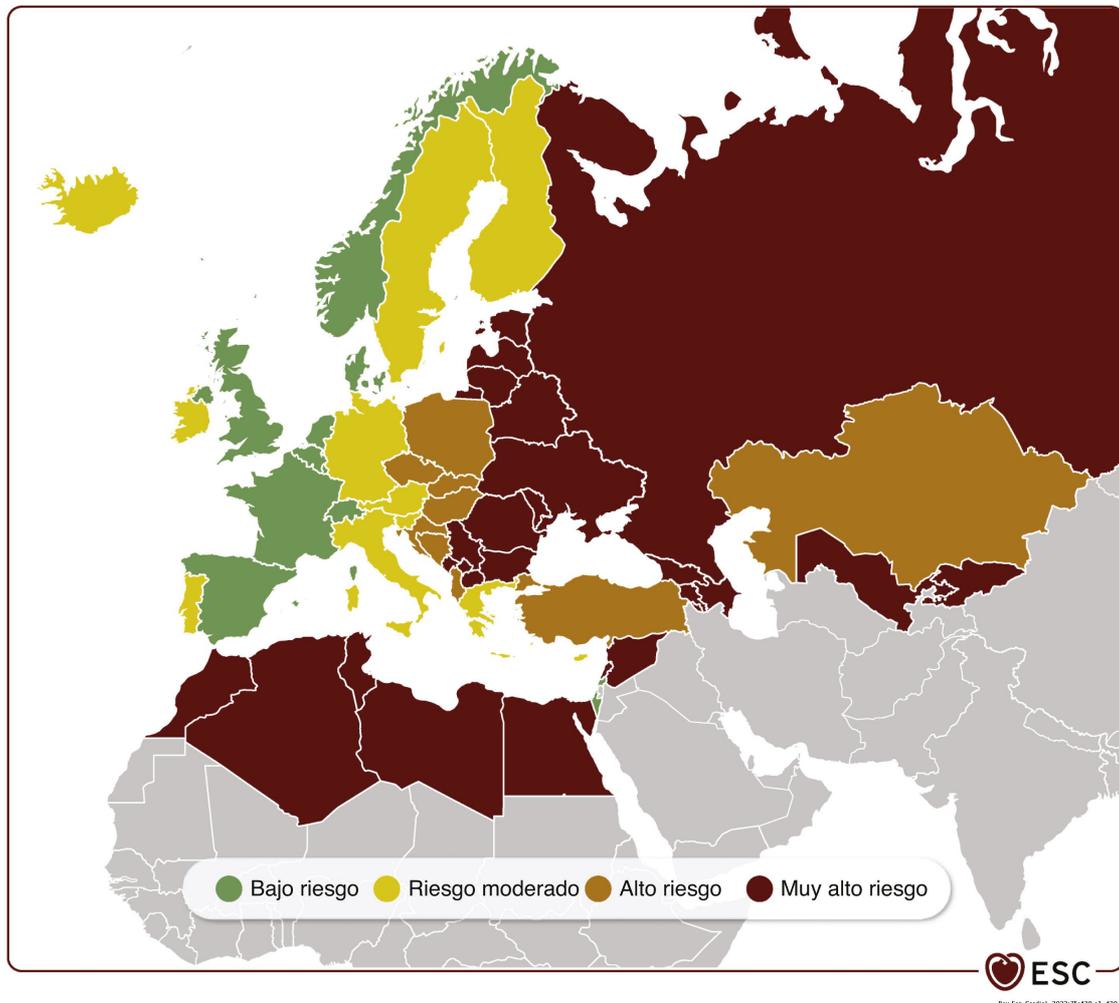


Ilustración 12. Regiones de riesgo según las tasas de mortalidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (53).

Sin embargo, sabemos que no todos los eventos cardiovasculares se dan en personas con estos factores de riesgo. De hecho cuando clasificamos a los individuos de una población según las tablas SCORE en categorías de riesgo:

- Riesgo bajo si tiene un riesgo menor a 5% enfermedad cardiovascular a 10 años.
- Riesgo intermedio, si tiene un riesgo de enfermedad cardiovascular a 10 años entre el 5 y el 10%.
- Riesgo alto si tiene un riesgo mayor al 10% de enfermedad cardiovascular a 10 años.

La mayoría de la población se sitúa en riesgo bajo, con una baja incidencia de enfermedad cardiovascular, en el que se realizan medidas de prevención poco agresivas. Un porcentaje algo menor, está en el grupo de riesgo intermedio, en el que se toma una actitud similar a los de bajo riesgo. Y una minoría de la población aparece clasificada en el grupo de alto riesgo, en el que se toman medidas higiénico dietéticas y farmacológicas más agresivas con objetivos de prevención más exigentes.

Dado el gran número de personas que se encuentra en la franja de riesgo intermedio, la incidencia no desdeñable de enfermedad cardiovascular y la escasa intervención de los profesionales en este grupo de pacientes, es donde se acumulan un mayor número de eventos cardiovasculares. Este hecho, pone en duda, muchas de las estrategias de cribado de riesgo cardiovascular que se llevan a cabo en la práctica clínica habitual.

Por lo que no es de extrañar que en los últimos años la investigación se haya centrado en estudiar otros marcadores de riesgo cardiovascular no convencionales tanto clínicos, como inflamatorios, estudio directo de placa por imagen, y marcadores genéticos, para modificar o reclasificar el riesgo cardiovascular de estos pacientes.

- **Marcadores clínicos.**

Distintas condiciones clínicas han sido estudiadas como modificadores del riesgo cardiovascular, como se ha expuesto previamente, condiciones como la enfermedad renal crónica, la presencia de fibrilación auricular, hígado graso, el hallazgo de pulso pedio débil o indetectable, o un índice tobillo-brazo < 0.9 , son posibles factores que ayudarían reclasificar a individuos en prevención cardiovascular (52, 53).

- **Marcadores serológicos.**

Marcadores serológicos de inflamación: Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP).

La inflamación forma parte activa de todo el proceso de la aterosclerosis, calcificación vascular, y de los eventos cardiovasculares.

Se han estudiado diversos marcadores inflamatorios para la evaluación del riesgo cardiovascular en los últimos años con resultados prometedores, aunque con poca utilidad por el momento en la práctica clínica habitual.

En la actualidad el biomarcador más estudiado del proceso inflamatorio es la hsCRP, como reactante de fase aguda (72-78). Se ha demostrado que la elevación de este biomarcador predice riesgo de infarto de miocardio, ictus o enfermedad arterial periférica, en población asintomática, incluso con niveles de LDL bajos (72). Se han descrito diversos mecanismos, como la oxidación del c-LDL o la vía del óxido nítrico (73,74). Añadiendo así valor pronóstico, al resto de factores de riesgo y al perfil lipídico.

Se han estudiado otros biomarcadores de inflamación para la predicción del riesgo cardiovascular como citosina, interleucinas, y otras moléculas de adhesión. Sin embargo por el momento no tienen aplicación en la práctica clínica.

Marcadores serológicos hemostasia: Homocisteína.

Se ha estudiado ampliamente en la literatura como factor de riesgo de eventos cardiovasculares. Se han identificado varias mutaciones de enzimas relacionadas con el metabolismo de la homocisteína que se han relacionado con más eventos coronarios y trombosis (11,78).

Marcadores serológicos lipídicos: Lipoproteína a (Lpa).

La Lpa está formada por un partícula de LDL con su ApoB 100, ligado a la apolipoproteína a (apo a), que tiene una gran heterogeneidad.

La concentración plasmática de Lpa esta inversamente relacionada con el tamaño de la isoforma de apo a. (79)

Un metaanálisis reciente de diversos estudios prospectivos relaciona de forma directa la concentración plasmática de Lpa con mayor riesgo de cardiopatía isquémica e ictus. De hecho en las últimas guías de la sociedad europea de cardiología de manejo de dislipemias (11), se recomienda su uso, al menos una vez en la vida de un adulto, para identificar individuos de alto riesgo cardiovascular (80).

- **Marcadores mediante estudio de la placa por imagen.**

El estudio de la aterosclerosis preclínica con imagen nos ofrece un método alternativo para identificar personas de alto riesgo cardiovascular.

El marcador de riesgo por imagen más estudiado clásicamente ha sido la determinación del grosor de la íntima-media carotídea (c-IMT) por ecografía, y más recientemente el score de calcio coronario (CCS) por tomografía computarizada (TC), de los que hablaremos más extensamente en posteriores apartados.

En este caso, tanto los marcadores mediante estudio de placa por imagen (c-IMT, CCS), ya nos están indicando lesiones preclínicas, y por lo tanto cambia el abordaje de estos pacientes.

- **Marcadores genéticos.**

La predisposición genética supone hasta un 50% del riesgo en cardiopatía isquémica, siendo el factor de riesgo más importante en el desarrollo de enfermedad aterosclerótica (1,2).

Todos estos marcadores de riesgo nos van a permitir modificar e incluso reclasificar a los pacientes en un grupo de riesgo, siendo fundamentalmente útil en los pacientes de riesgo intermedio en los que como hemos visto, ocurren una gran cantidad de eventos en asintomáticos. Esto nos va a permitir ser más eficientes y coste-efectivos en las intervenciones en prevención primaria y secundaria, y última instancia evitar eventos.

- **Métodos diagnósticos y de evaluación de enfermedad arterial periférica.**

Evaluación clínica.

Una historia clínica exhaustiva incluyendo todos los factores de riesgo cardiovascular, y una anamnesis detallada de los síntomas, así como una exploración física completa, son fundamentales para el abordaje diagnóstico de todo paciente con sospecha de enfermedad arterial periférica (5).

Pruebas de laboratorio.

Los estudios de laboratorio deben ir desde lo más básico, como un hemograma, y estudio bioquímico, hasta el estudio de factores de riesgo cardiovascular, descartar desencadenantes, y otros marcadores más complejos, si se precisa (5).

Índice tobillo-brazo (ITB).

El ITB, es una herramienta útil y accesible, para la detección y seguimiento de enfermedad arterial periférica. Se obtiene al dividir el valor más alto de la presión arterial sistólica en tobillo (arteria pedia, o tibial posterior), entre el valor más alto de la misma, en arterias braquiales. Un valor menor a 0,9 presenta una alta sensibilidad (95%) y especificidad (99%) para detectar estenosis arteriales significativas (>50%) en miembros inferiores (5).

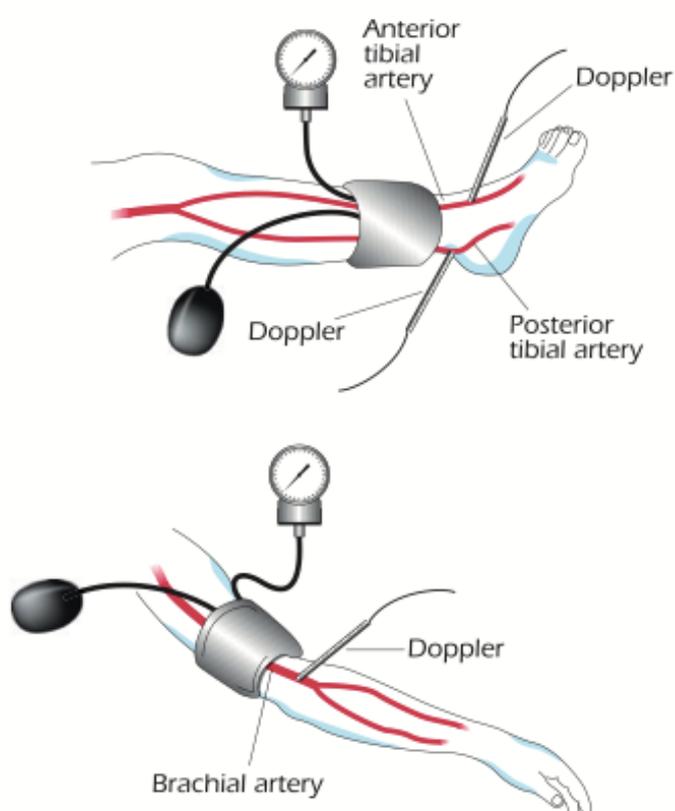


Ilustración 13. Forma de medir el ITB según las guías sobre el diagnóstico y tratamiento de enfermedad arterial periférica, de la Sociedad Europea de Cardiología en colaboración con la Sociedad de Cirugía Vascul ar (5).

Se ha demostrado que el ITB tiene un valor pronóstico, y se ha relacionado con la presencia de aterosclerosis en otros territorios, asociado a mayor riesgo cardiovascular, mayor prevalencia de diabetes y síndrome metabólico, y mayor mortalidad cardiovascular a expensas de complicaciones coronarias y cerebrovasculares (81-91).

Este método diagnóstico permite además reclasificar a un importante número de pacientes, con una estimación inicial de riesgo bajo (82). Siendo independiente de los factores de riesgo clásicos (83). Además, a diferencia de otras, es una herramienta barata y rápida, pudiéndose realizar en cualquier consulta. Si bien, es cierto que requiere una cierta preparación para realizarlo.

Las indicaciones para su realización serían según las guías de práctica clínica (5): pacientes con sospecha clínica de enfermedad arterial de extremidades inferiores (ausencia de pulso, o soplo, claudicación, herida que no cura), pacientes con condiciones clínicas de riesgo (enfermedad aterosclerótica en otro territorio, aneurisma de aorta, enfermedad renal crónica, insuficiencia cardíaca) o personas asintomáticas en riesgo (> 65 años, personas con alto riesgo cardiovascular, antecedentes familiares).

Sin embargo con esta prueba podemos diagnosticar y evaluar la presencia de enfermedad arterial en extremidades inferiores, pero no nos da tanta información sobre la complejidad y localización de la misma.

Ecografía dúplex (ED).

La ecografía suele ser la primera prueba de cribado y diagnóstico de enfermedad vascular periférica. Incluye la ecografía en modo B, doppler color, doppler pulsado y continuo. Esta prueba es útil para detectar, y localizar lesiones ateroscleróticas vasculares, así como para valorar su severidad. Aporta información tanto anatómica como hemodinámica. Esta técnica se ha ido perfeccionando gracias a la aparición de ecografía 3D, y métodos de contraste que optimizan la imagen.

La ecografía, puede detectar enfermedad vascular subclínica siendo útil en la evaluación del riesgo cardiovascular. Tiene una sensibilidad del 85-90% y una especificidad > 95% para detectar estenosis > 50% en arterias periféricas (92).

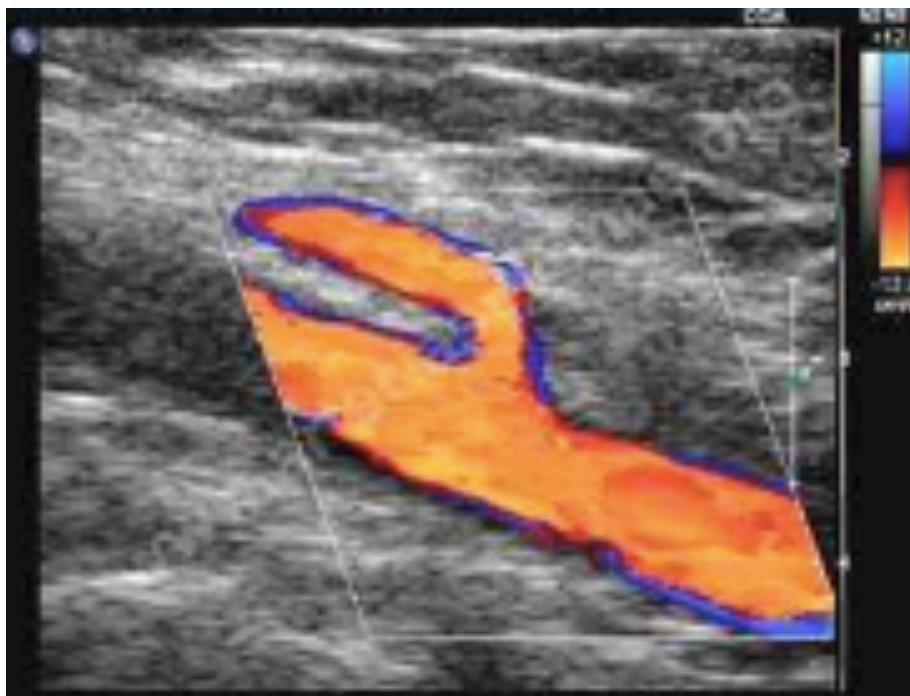


Ilustración 14. Imagen de ecografía dúplex (ED) arterial de extremidad inferior de un paciente de nuestro estudio.

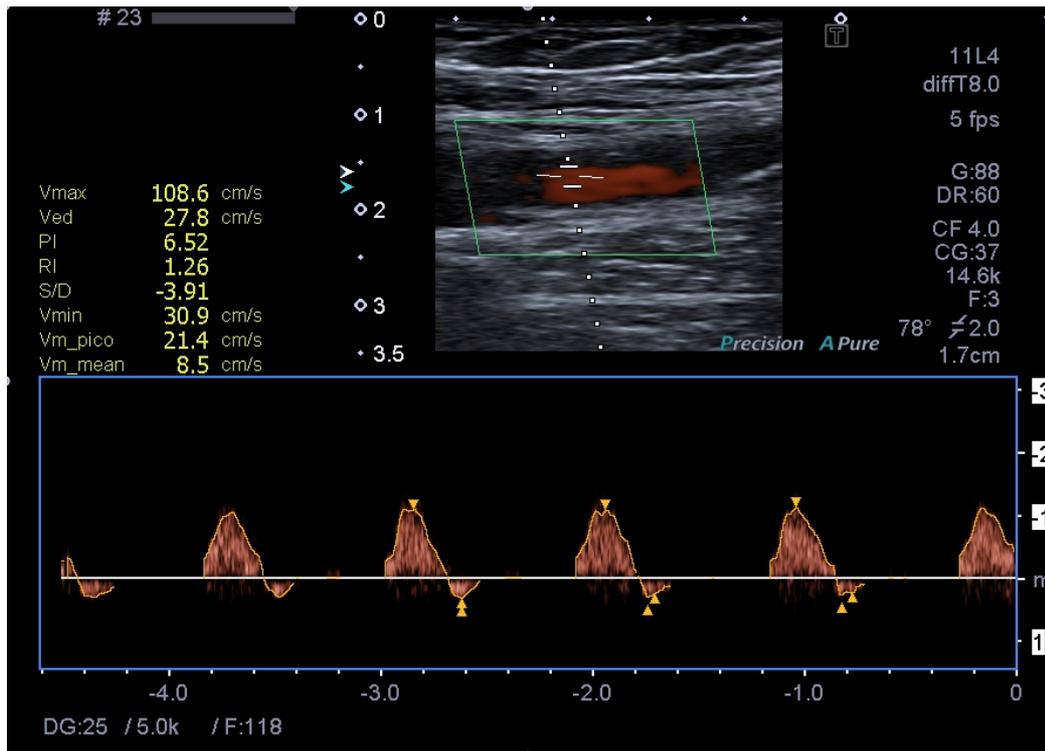


Ilustración 15. Imagen de ecografía dúplex (ED) arterial de extremidad inferior con estudio funcional (doppler pulsado) de un paciente de nuestro estudio.

Angiografía por sustracción digital.

Se trata de una técnica invasiva, con valor diagnóstico, pero sobretodo terapéutico.

Esta técnica de imagen es útil para guiar los procedimientos terapéuticos percutáneos de intervención periférica o identificar las arterias permeables en caso de *bypass* distal.

También se utiliza para el estudio de arterias por debajo de la rodilla, debido a la escasa capacidad de detección de otras técnicas de imagen para los segmentos del tobillo/pie aptos para *bypass* distal (93).

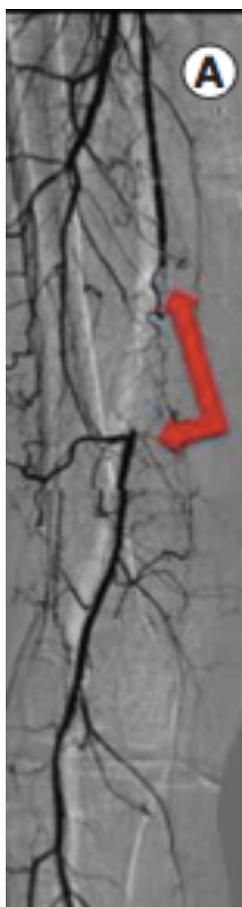


Ilustración 16. Angiografía por sustracción digital de un paciente con isquemia crítica. Las flechas señalan obstrucción arterial completa (93).



Ilustración 17. Imagen de angiografía para procedimientos terapéuticos de dos pacientes del estudio.

Angiografía por Tomografía Computarizada (CTA).

La CTA permite obtener imágenes de forma rápida y no invasiva de los vasos sanguíneos, y con la opción además de realizar reconstrucciones 3D. Permite realizar el diagnóstico de lesiones ateroscleróticas, así como valorar su localización y gravedad y plantear estrategias de tratamiento. Se realiza en todos los pacientes con enfermedad arterial periférica previo a una posible intervención.

Se ha demostrado mediante metaanálisis que la CTA tiene una sensibilidad del 96% y una especificidad del 98% para detectar estenosis aortoiliacas > 50%, y una sensibilidad del 97% y especificidad del 94% en región femoropoplítea (94).

La gran ventaja de esta técnica es la visualización de calcificaciones, *clips*, *stents*, *bypass* y aneurismas concomitantes.

Las limitaciones de la CTA son la falta de datos funcionales, la necesidad de radiación y el uso de medios de contraste (de especial importancia en pacientes con enfermedad renal crónica), así como la presencia calcificación severa de las lesiones, que impide la valoración del grado de estenosis, y puede provocar falsos positivos.

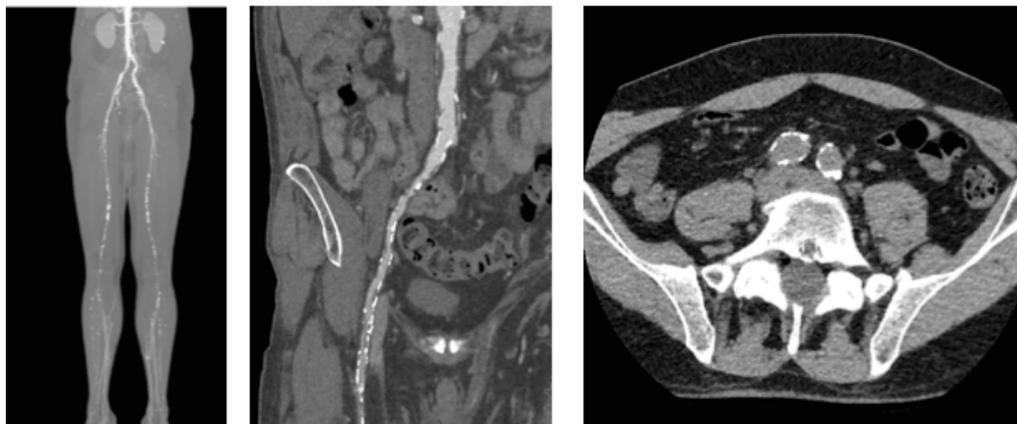


Ilustración 18. Imágenes de CTA de extremidades inferiores, como parte del estudio de pacientes con enfermedad arterial periférica. Imágenes de CTA de pacientes del estudio.

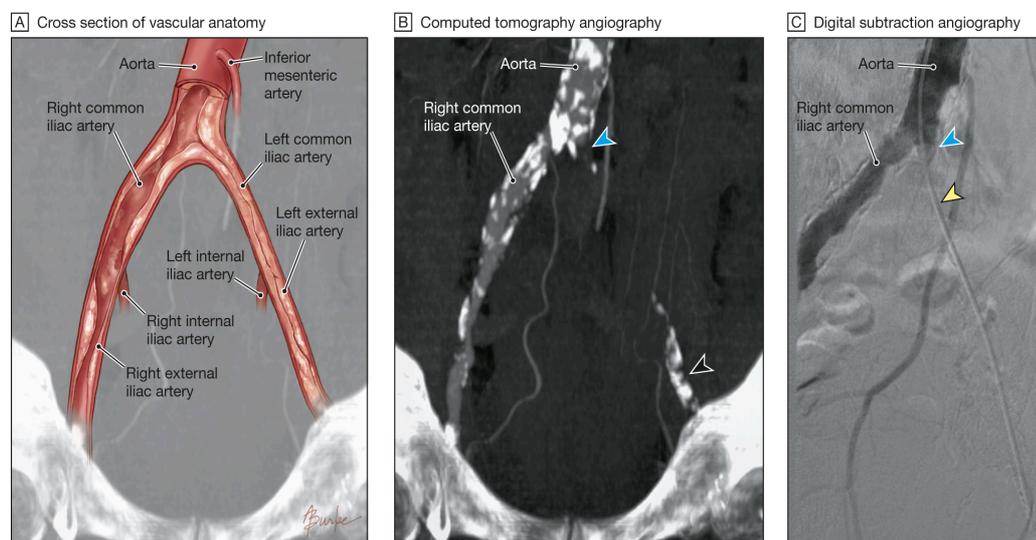


Ilustración 19. A: Imagen anatómica de arteria iliaca. B: CTS arteria iliaca. C: Angiografía por sustracción digital arteria iliaca. Flechas azules: origen arteria iliaca común ocluida. Flecha negra: calcificación de arteria iliaca externa. Flecha amarilla: catéter.

Angiografía por Resonancia Magnética (ARM).

La ARM, con o sin contraste (gadolinio), permite la obtención de imágenes vasculares, pudiendo ser una alternativa al TC para evitar la radiación o el contraste yodado.

Las secuencias de pulso que se emplean en los estudios de ARM se pueden dividir en secuencias de “sangre negra” (darkblood) y secuencias de “sangre blanca” (bright-blood). En las secuencias de “sangre negra” la sangre que circula con flujo elevado presenta intensidad de señal baja (hipointensa), y se utilizan para obtener información anatómica. Las secuencias de “sangre blanca” son secuencias eco de gradiente, en las que la sangre circulante es hiperintensa, debido al realce de la señal de la sangre en movimiento y permiten obtener información anatómica y funcional (el vacío de señal que condiciona el flujo turbulento en estenosis hemodinámicamente significativas) (95).

La ARM tiene una sensibilidad y especificidad cercanas al 95%, para el diagnóstico de estenosis arteriales en extremidades inferiores, aunque se ha demostrado que tiende a sobrestimar el grado de estenosis (96).

Como limitaciones de esta técnica es frecuente que haya artefactos por movimiento, existe también el riesgo del contraste con gadolinio (fibrosis nefrogénica sistémica, en pacientes con enfermedad renal grave), y las posibles contraindicaciones en pacientes portadores dispositivos no compatibles, o con intolerancia por claustrofobia (aunque actualmente se ha solventado con la aparición de aparatos de resonancia abierta). Además no permite visualizar las calcificaciones arteriales, útiles de cara a seleccionar el lugar anastomótico en la cirugía de *bypass*, y la visualización de los *stents* metálicos es pobre (96).

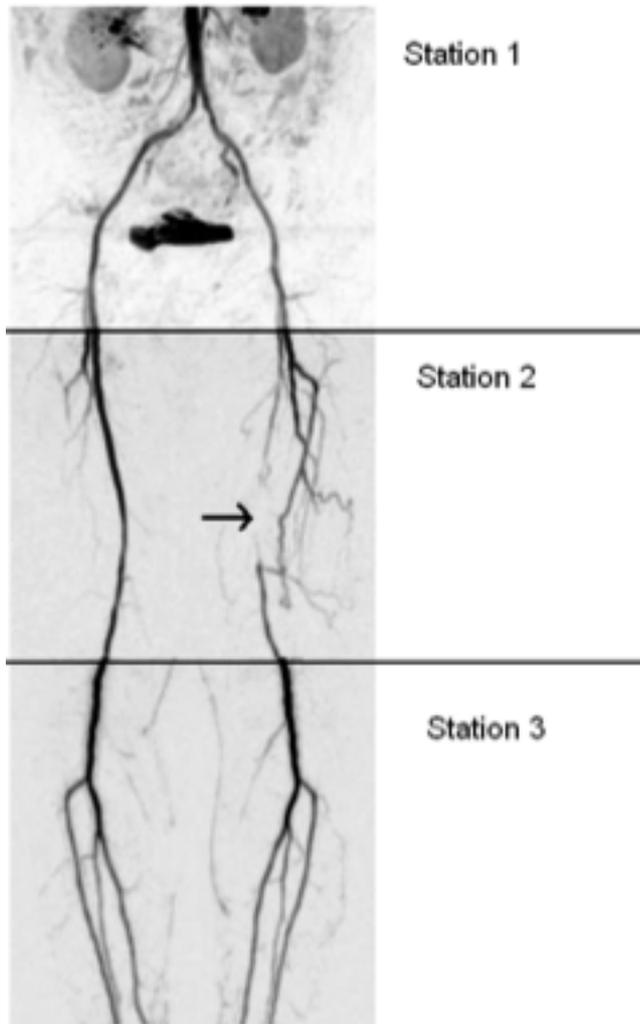


Ilustración 20. Angiografía por resonancia (ARM) con contraste de las arterias periféricas de extremidades inferiores (95).

2.2 Papel de la imagen en la predicción del riesgo cardiovascular.

Como se ha expuesto, hasta hace unos años la cuantificación del riesgo cardiovascular individual se realizaba mediante scores basados en la edad, el sexo, la presencia de factores de riesgo convencionales, y la prevalencia de enfermedad coronaria en la población estudiada. Con estas escalas de riesgo se clasifica a los pacientes, en pacientes de riesgo alto o muy alto (20-30% de la población), bajo riesgo (30-40%), y pacientes de riesgo intermedio (40-50%) (52, 53). Según estos grupos de riesgo se realizan las recomendaciones de estilo de vida y tratamiento médico, y se fijan los objetivos en prevención cardiovascular. Incluso se realizan pruebas de cribado en pacientes de alto riesgo.

Sin embargo sabemos que la mayoría de los eventos ocurren en pacientes, asintomáticos previamente y que habían sido catalogados por estos scores como de riesgo intermedio o bajo. En estos pacientes cobran cada vez más importancia otros factores modificadores del riesgo cardiovascular (52,53). Como se ha comentado previamente, se han estudiado, marcadores clínicos y serológicos. Sin embargo la gran revolución en nuestros días en la aproximación diagnóstica de la aterosclerosis ha sido en el campo de la imagen cardiovascular, permitiendo mejoría en la evaluación de riesgo individual.

La tecnología que se ha incorporado en el campo de la imagen vascular a nivel clínico nos permite desde hace unos años estudiar marcadores derivados de la imagen asociados con la aterosclerosis, que nos van a permitir predecir el riesgo de nuestros pacientes de forma individual, y optimizar su tratamiento, evitando así el infra o sobretratamiento de la población en prevención primaria o secundaria.

En las últimas guías americanas de prevención de riesgo cardiovascular (52), ya aparecen las técnicas de imagen en los algoritmos de cálculo del riesgo cardiovascular, como factor modificador, en pacientes de riesgo intermedio. Y más recientemente en las guías europeas de cardiología de manejo de dislipemias de 2019 (12), y de prevención de riesgo cardiovascular 2021 (53), aparecen las técnicas de imagen, ya no sólo como factor modificador, si no como

clasificador del riesgo. Se equipara la presencia de placa significativa en angiografía coronaria invasiva o por TC (> 50% en al menos dos arterias coronarias epicárdicas), o ultrasonido carotideo, a pacientes de muy alto riesgo cardiovascular, donde se debe realizar prevención con objetivos iguales a los pacientes que ya han sufrido un evento. Además se mantiene también como factor modificador del riesgo, si no cumple estos criterios.

También se ha dado más importancia a la ecografía vascular y se habla de carga de aterosclerosis en ecografía carotidea o femoral que se puede utilizar también como factor modificador del riesgo (11, 52, 53).

Hemos observado cómo se ha pasado de un modelo con marcadores indirectos, a valoración directa de la placa de ateroma. Estudios de hace ya más de 10 años demostraron que si añadimos la valoración directa de la carga de placa a marcadores indirectos como el c-IMT y a los factores de riesgo tradicionales, mejora la estimación del riesgo cardiovascular (97,98,99).

En los primeros años del desarrollo de la hemodinámica, se basaba el tratamiento en la severidad anatómica (angiográfica) de la obstrucción de vaso sanguíneo. Actualmente sabemos que la severidad de las estenosis en la enfermedad aterosclerótica estable no es buen marcador de riesgo de eventos.

Durante años posteriores se ha estudiado la vulnerabilidad de las placa intracoronaria, para valorar cual era susceptible de rotura, con escaso éxito; demostrándose que lo que realmente predice eventos y pronóstico es la carga total de placa aterosclerótica (100).

El estudio PESA (3) y el reciente ensayo VIVA (99) demostraron que la detección vascular múltiple puede detectar aterosclerosis subclínica en un grado significativamente mayor que las intervenciones de detección vascular única. Por tanto el futuro para valorar el riesgo cardiovascular y pronóstico de estos pacientes es el estudio conjunto de múltiples territorios vasculares, y la multimodalidad con distintas técnicas de imagen vascular.

a) c-IMT como marcador de aterosclerosis.

El c-IMT se ha estudiado exhaustivamente como un marcador de aterosclerosis global y estudios amplios validaron su papel, como un marcador predictor sustituto de la aterosclerosis (100, 101).

Se demostró un incremento significativo del riesgo cardiovascular, por cada aumento de 0.1mm en el espesor de la íntima y media carotídea, aunque en este mismo análisis se objetivó que perdía relevancia clínica una vez ajustado por factores de riesgo habituales (102). Este estudio sugirió que la adición de medidas de ecografía carotídea a los factores de riesgo convencionales puede mejorar la estratificación del riesgo de ECV. Al mismo tiempo, el aumento en la carga de la placa carotídea y el espesor máximo de la placa carotídea se asociaron con el aumento del riesgo de eventos cardiovasculares mayores (MACE) futuros.

Sin embargo, según el conocimiento de los autores, hasta el momento no hay estudios sobre el papel de un marcador similar derivado de la obtención de imágenes, representado por el grosor del íntima-media ilíaco, para predecir el riesgo cardiovascular o la gravedad de la enfermedad en la EAP.

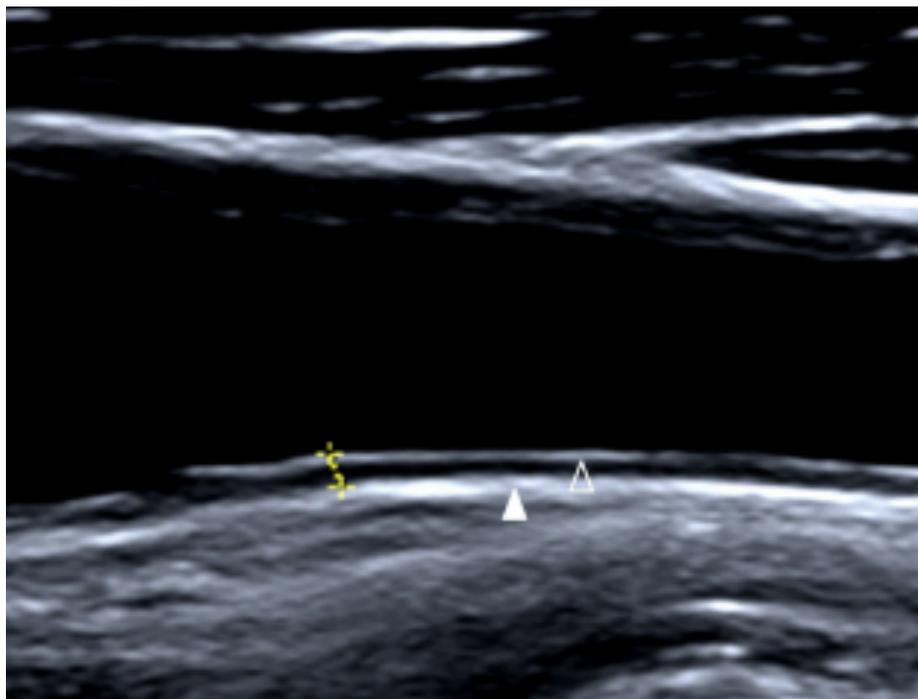


Ilustración 21. Medida del grosor íntima-media carotideo en modo B. Un plano longitudinal de arteria carótida común (ACC) izquierda (102).

b) CCS como marcador de aterosclerosis y riesgo cardiovascular.

Desde hace ya varios años se ha evidenciado que la cantidad de calcio en los vasos coronarios, expresada por el CCS mediante TC, está asociada con la presencia y la gravedad de las lesiones ateroscleróticas coronarias, independientemente de los factores de riesgo tradicionales (103).

El índice de Agatston desarrollado como un método de cuantificación de la calcificación de las arterias coronarias, ha transformado el campo de la evaluación del riesgo cardiovascular. Fue introducido en 1990 por el Doctor Arthur Agatston y revolucionó la identificación de la calcificación arterial coronaria a través de TC (104). Este método no solo facilitó la detección de la carga de placa aterosclerótica, sino que también permitió la cuantificación de la extensión de la calcificación, proveyendo a los clínicos de una valiosa herramienta para la evaluación del

riesgo cardiovascular. Esta herramienta ha demostrado tener un valor diagnóstico (la calcificación coronaria es un hallazgo patognomónico de aterosclerosis), y sobre todo pronóstico, ya que se correlaciona con la carga aterosclerótica total del individuo, permitiendo la reclasificación en prevención primaria (105).

Sabemos que la distribución del CCS no es lineal en relación con la edad, y los factores de riesgo tradicionales (106).

El estudio MESA (107) demostró, que los pacientes con un score de calcio de 0, tiene muy bajo riesgo de eventos, y a medida que aumenta el Score de calcio es un continuo de aumento del riesgo cardiovascular hasta que en niveles > 300-400 unidades Agatston, el riesgo se hace muy elevado (más de 10 veces mayor riesgo de eventos respecto a no tenerlo, independientemente de los factores de riesgo tradicionales) (107).

Si bien es cierto que las placas cálcicas suelen ser estables (son responsables de < 1-5% de los eventos coronarios), el CCS es un marcador de riesgo por estimar la carga aterosclerótica total que tiene el individuo, y por tanto riesgo de eventos cardiovasculares, sin tener en cambio correlación con el grado de estenosis de las placas ni por tanto con los síntomas del paciente.

Además, un CCS alto se asoció de forma independiente con una puntuación de Syntax score más alta. El Syntax score expresa la complejidad angiográfica de la EAC, puesto que permite combinar las variables de pronóstico clínico y anatómico, creando predicciones de mortalidad precisas para ayudar a la elección entre cirugía abierta o endovascular para pacientes con enfermedad coronaria que afecta a múltiples vasos (105, 106, 107). Por tanto un CCS elevado se relaciona con la complejidad angiográfica y las posibilidades de revascularización de la enfermedad coronaria. También se ha demostrado correlación entre el CCS y la puntuación de Gensini (un marcador de la severidad angiográfica de la EAC) (108).

El CCS se ha comparado también en varios estudios, con otras pruebas de imagen estudiadas previamente como el c-IMT medido por ecografía (108, 109, 110,111,112). Teniendo

correlación, y siendo superior en la predicción de eventos coronarios. Aunque hasta la fecha no se ha comparado con la calcificación a nivel del eje ilíaco.

El CCS se trata además un estudio cada vez más accesible, ya que es una prueba que se realiza sin contraste, de forma semiautomática con un TC sincronizado con el electrocardiograma. Permite por tanto realizarse sin acceso venoso, y sin medicación previa; permitiendo una adquisición rápida de imágenes (< 5 minutos en muchos casos), y con baja dosis de radiación (0.5-1.8mSv). Requiere un software con capacidad de reconocer en la zona seleccionada el nivel de atenuación que corresponde al calcio (>130 UH), y cuantificarlo en unidades Agatston, que relacionan el área de la placa con la intensidad de la atenuación.

Como limitación de la técnica, no nos permite detectar placas ateroscleróticas no calcificadas, lo que puede suponer una escasa sensibilidad sobre todo en paciente jóvenes. Problema que actualmente se ha solventado con el estudio de imagen más centrado en las características de la placa y con CTA.



Ilustración 22. TC cardiaco, donde se puede apreciar la calcificación a nivel de las arterias coronarias. Imagen de uno de los pacientes del presente trabajo.

c) CCS, carga aterosclerótica global y función ventricular izquierda.

Sabemos que la aterosclerosis coronaria se asocia con una alteración progresiva de la función del ventrículo izquierdo (FEVI).

La relación entre los marcadores de aterosclerosis subclínica y la disfunción del ventrículo izquierdo se ha estudiado previamente en un subgrupo poblacional del estudio MESA (107), en una población seleccionada, en la que se compararon los índices de asincronía mecánica del ventrículo izquierdo (VI) (evaluados mediante resonancia magnética) con c-IMT y CCS. Los resultados de este ensayo mostraron que c-IMT y CCS están significativamente relacionados con la disfunción regional subclínica del VI.

d) ICS e i-IMT como nuevos marcadores de aterosclerosis.

La importancia de la puntuación del calcio se extiende más allá de las arterias coronarias (116). Con el auge de la integración de las técnicas de imagen, la evaluación de la calcificación se ha extendido a las arterias periféricas, incluyendo las arterias ilíacas. Sin embargo la potencial correlación entre los scores de calcio en distintos territorios vasculares permanece inexplorado.

La trayectoria histórica de la medicina cardiovascular subraya el profundo impacto de las modalidades diagnósticas en los resultados de los pacientes. En las últimas décadas este campo ha presenciado un cambio de paradigma hacia una aproximación proactiva para la prevención y la intervención precoz.

Las calcificaciones arteriales en las arterias ilíacas se pueden evaluar fácilmente mediante CTA, una técnica que, según las directrices europeas, tiene una indicación de clase I en pacientes con EAP sintomática (5).

Dada la alta incidencia de EAP en la población con aterosclerosis en otros territorios, existe una necesidad obvia de identificación de herramientas de detección más completas, además del clásico índice tobillo-brazo que puedan predecir no solo la presencia de EAP, sino también su gravedad o complejidad. Sobre la base del presente proyecto, el ICS podría representar un buen candidato para convertirse en una herramienta de detección efectiva para la aterosclerosis a este nivel.

En un estudio reciente que incluyó a más de 4000 pacientes, Allison et al. (114) demostraron que la presencia de calcio en las arterias ilíacas estaba asociada con la mortalidad total, mientras que la presencia de calcio coronario estaba asociada con la mortalidad cardiovascular y cada incremento en la gravedad de la carga de calcio ilíaco era un predictor fuerte para todos los tipos de mortalidad. Esto también se ha mostrado en otros estudios en los que se ha

objetivado que la calcificación de las arterias ilíacas externas se asoció significativamente con la mortalidad por todas las causas y por ECV (117).

La evidencia del estudio de Rotterdam también favorece la teoría de que la carga aterosclerótica de los vasos principales está relacionada con una mayor mortalidad cardiovascular. Estos datos también muestran que se requieren nuevos modelos de predicción para una evaluación completa de la carga aterosclerótica global y su riesgo asociado, modelos que incluirían la evaluación de la carga de calcio en diferentes ubicaciones en el lecho vascular, incluidas las arterias ilíacas (117, 118, 119).

Aykan et al. (112) ya demostraron una relación directa entre la complejidad de las lesiones arteriales periféricas expresadas por la clase TASC y la complejidad de las lesiones coronarias expresadas por la puntuación de Syntax.

Este estudio en un área crítica de la investigación, pretende abordar esta laguna en la evidencia, buscando dilucidar la potencial correlación entre el CCS y el ICS, ambas medidas cuantificadas mediante del índice de Agatston.

Tal exploración es prometedora para refinar las estrategias de evaluación de riesgos y mejorar nuestro conocimiento de las manifestaciones sistémicas de la aterosclerosis.

Además, el estudio pretende evaluar cómo la inclusión del ICS en los modelos de evaluación del riesgo cardiovascular podría impactar en la estratificación de riesgo y en la toma de decisiones clínicas.

Si se establece una correlación positiva entre estos dos factores, esto podría llevar a la detección precoz de pacientes en riesgo de complicaciones coronarias, basado en la medida del calcio en arterias ilíacas. Este potencial vínculo podría revolucionar la evaluación del riesgo cardiovascular, proporcionando una herramienta predictiva adicional. Identificando pacientes con mayor riesgo coronario a través de la medición del calcio arterial ilíaco, podría hacer

posible más intervenciones proactivas y planes de tratamiento más personalizados, y de este modo reducir potencialmente la incidencia de eventos cardiovasculares mayores.

Varios estudios han demostrado una buena correlación entre el CCS y el c-IMT, de hecho, el c-IMT muestra una sensibilidad del 75% y una especificidad del 60% para predecir una CCS alta en adultos asintomáticos, y su utilidad para predecir eventos cardiovasculares (108,109, 110, 111, 112).

En este estudio también queremos demostrar mediante un análisis de regresión lineal una buena correlación entre el ICS y el i-IMT, dos marcadores derivados de la imagen del proceso aterosclerótico a nivel de las arterias ilíacas, similar a la correlación observada en la literatura entre CCS y c-IMT (111,112). Asumimos que de forma similar al papel desempeñado por CCS y c-IMT para la detección de aterosclerosis coronaria, tanto ICS como i-IMT podrían servir como marcadores sustitutos de la aterosclerosis a nivel de las arterias periféricas. Es por este motivo que en nuestro estudio queremos evaluar la correlación entre ambos parámetros, que no ha sido demostrada hasta la fecha.

El trabajo que proponemos es pionero en evaluar la calcificación de las arterias ilíacas, el grosor de la media-íntima en los ejes arteriales ilíacos, y su correlación con la clínica y la severidad de la enfermedad aterosclerótica de las extremidades inferiores, así como su correlación con el CCS, para proporcionar información adicional sobre la carga y la severidad de la enfermedad aterosclerótica.

Cabe señalar que los estudios previos se centraron en la correlación entre la cantidad de calcio por TC en arterias coronarias y en el grosor por ultrasonido de la íntima-media carotídea (eco-doppler vascular), utilizando por tanto diferentes técnicas de imagen y diferentes territorios, para la estimación de riesgo cardiovascular.

Según el conocimiento de los autores, este es el primer estudio que informa sobre la asociación entre dos marcadores validados de carga aterosclerótica (puntuación de calcio y

grosor intima-media) determinada al mismo nivel (arterias ilíacas) y que utiliza la misma técnica (CTA).

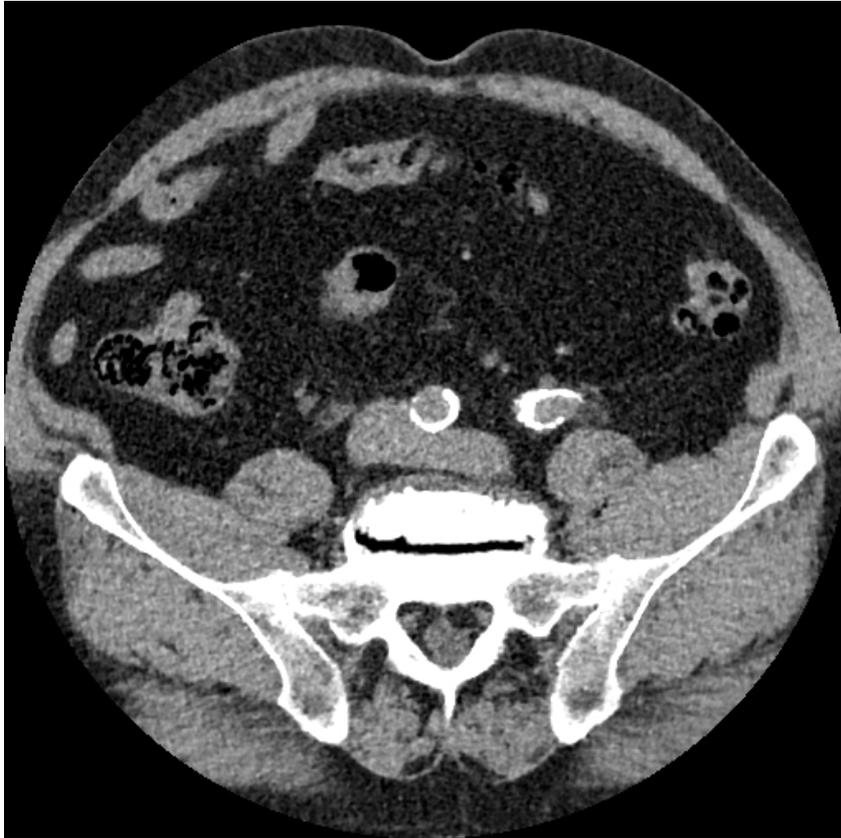


Ilustración 23. TC iliaco, donde se puede apreciar la calcificación arterial a nivel de la pared vascular de ambas arterias ilíacas. Imagen de TC de un paciente del estudio.

2. 3 Genética y aterosclerosis.

Hoy en día, sabemos que el factor de riesgo más importante para la presencia de aterosclerosis es la predisposición genética individual, que tiene una influencia de hasta un 50% del riesgo cardiovascular total (2).

El ADN es la molécula que contiene toda la información genética que va a regular la síntesis y la funcionalidad de las proteínas (1).

Algunos cambios en la secuencia de bases del ADN, respecto a lo más frecuente en la población, pueden no tener ningún significado porque el aminoácido que se incorpora a la síntesis de la proteína es el mismo. Sin embargo otras veces, esta alteración del material genético sí produce un cambio del aminoácido, y esto produce una modificación en la estructura de la proteína sintetizada, proporcionándola una funcionalidad diferente que puede ser beneficiosa o deletérea, que puede tener impacto en la salud del individuo (1).

En cuanto a las enfermedades con una base genética, podemos hablar de:

- Enfermedades con herencia mendeliana: en las que hay un gen o un número reducido de genes que tienen un papel fundamental o indican la presencia de la enfermedad (como la HF) (1).
- Enfermedades complejas: muchas enfermedades, como la aterosclerosis, tienen este tipo de herencia, en las que muchos genes y muchas variantes de los mismos, generan una predisposición a la enfermedad y en las que el ambiente tiene un papel fundamental en el desarrollo de la misma.

Algunas de las ventajas de poder utilizar hallazgos del genotipo para la estimación del riesgo cardiovascular y la aproximación diagnóstica a la aterosclerosis es que se trata de

características que no cambian con la edad, el sexo, la alimentación o los fármacos. Tampoco existe variabilidad intraindividual, por lo que una determinación el vida es suficiente.

Además se ha demostrado que cambios en el estilo de vida pueden llegar a corregir una carga genética adversa (Khera et al) (120), por lo tanto será muy útil para ser más agresivos en las recomendaciones y tratamiento de estos pacientes, así como para motivar a estos individuos a cumplir estos objetivos.

Hay una enorme variación en la secuencia del genoma humano y las mutaciones no son infrecuentes. Cuando una variante de secuencia ocurre en más de un 1% de la población se llama polimorfismo.

Si el polimorfismo involucra a un solo par de bases de nucleótido se llaman polimorfismos de nucleótido único (por sus siglas en inglés SNPs). Aunque esto puede no tener ningún efecto fisiológico, es probable que afecte a la función del gen y puede alterar la cantidad o tipo de la proteína producida, cuando ocurren en regiones codificantes o reguladoras.

Aproximadamente la mitad de los SNPs que ocurren en regiones codificantes causan mutaciones sin sentido (*missense* en inglés) en las proteínas codificadas, y la otra mitad son mutaciones silenciosas (*silent*), que no alteran la estructura de la proteína.

Además las mutaciones *missense* debidas a SNPs, puede producir o no un fenotipo alterado detectable, representado casi la mitad de todas la mutaciones de ADN que se sabe que están relacionadas con un trastorno hereditario.

El concepto de mapeo genético fue definido por Thomas H. Morgan (114). Si los genes están en el mismo cromosoma tienen tendencia a heredarse juntos y se denominan ligados genéticamente. La probabilidad de que 2 genes del mismo cromosoma sean heredados juntos no es del 100%, debido la recombinación genética, en la que se intercambian regiones del cromosoma con su par homólogo durante la meiosis.

Hay una relación inversamente proporcional entre la probabilidad de ligamiento genético y la distancia entre dos genes a lo largo del ADN del cromosoma.

El desequilibrio del ligamiento es una asociación no aleatoria entre alelos, en la que dos marcadores genéticos y sus proteínas resultantes son encontradas juntas más frecuentemente de lo esperado.

Este desequilibrio de ligamiento y los polimorfismos hacen contribuciones importantes a la diversidad codificada por los genes y define las diferencias encontradas entre poblaciones.

Desde la aparición de estudios de asociación del genoma completo (GWAS), que permiten identificar SNPs, que asocian mayor riesgo cardiovascular, ha ido aumentando el interés en el tema.

a) Polimorfismos genéticos asociados a aterosclerosis.

Se han estudiado múltiples polimorfismos en diferentes genes asociados con aterosclerosis. Además se ha demostrado consistentemente que la adición de marcadores genéticos a la evaluación de riesgo, aumentó significativamente las capacidades predictivas (114).

Algunos de estos polimorfismos genéticos se asocian a fenotipos lipídicos que predisponen a cardiopatía isquémica. Otros predisponen o favorecen otros factores de riesgo, que median en la aterosclerosis.

Se han descrito otros polimorfismos del genoma asociados a aterosclerosis, independientemente de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales (116). Se han estudiado también variantes genéticas asociadas a determinados fenotipos de respuestas inflamatorias que intervienen en el proceso de la aterosclerosis. Y se ha encontrado asociación

de determinantes genéticos de fenotipos de células musculares lisas (117, 118), y reguladores del tono vascular así como señalizadores de la vía del óxido nítrico (117), con el desarrollo de enfermedad vascular.

Las células musculares lisas de los vasos sanguíneos son fundamentales en el desarrollo de enfermedad coronaria, pudiendo jugar un papel beneficioso o perjudicial según los cambios fenotípicos que experimenten. Son el principal tipo celular capaz de sintetizar componentes de la capa fibrosa de la placa de aterosclerosis, cuya ruptura o erosión puede ser el desencadenante de un infarto de miocardio en el caso de las arterias coronarias. El número de células musculares lisas en la capa fibrosa está directamente relacionado con la estabilidad de la placa. La migración y proliferación de estas células a la capa fibrosa y su posterior calcificación son importantes determinantes de la estabilidad de la placa. Se han observado numerosas variantes fenotípicas de células musculares lisas vasculares. Es posible que algunas de estas variaciones en los fenotipos se deban a cambios epigenéticos inducidos por el estilo de vida. Estudios recientes sugieren que estos fenotipos son independientes entre sí y están regulados por distintos loci genéticos. Esto contrasta con los estudios que demuestran que los cambios en el entorno local, como la presencia de estímulos proinflamatorios, cambios en la composición de la matriz extracelular y distintos patrones de tensión mecánica, inducen cambios coordinados en la migración y proliferación de estas células. Esto podría deberse al impacto sutil de las variantes genéticas en los fenotipos de estas células, que pueden verse dominadas por los estímulos ambientales (118). Por todo esto es interesante observar las interacciones gen-ambiente en el proceso de la aterosclerosis.

Se han estudiado también SPNs en distintos genes que se han asociado específicamente a enfermedad arterial coronaria e infarto de miocardio (Anexo IV) (145).

El riesgo asociado a cada uno de estos polimorfismos parece de pequeña cuantía, pero en determinados individuos en que se acumulen combinaciones de estos polimorfismos, pueden aumentar mucho el riesgo global, y favorecer la aparición de eventos de forma muy precoz.

Estudios recientes apuntan a que el estudio genético, mejora la predicción del riesgo cardiovascular individual, independientemente de los antecedentes familiares (116). Esto es ya muy útil en la práctica clínica en los casos en que se sospechen enfermedades o dislipemias familiares bien estudiadas, para posteriormente hacer un cribado de familiares en cascada una vez obtenido el resultado.

Además gracias a estos estudios se han generado nuevas dianas terapéuticas, que mejoran la seguridad y eficacia del tratamiento de estos pacientes (12). Siendo útil también en la valoración de la diversas respuestas al tratamiento. Pudiendo explicar en algunos casos la falta de eficacia de determinado fármacos en la población general, siendo útil en determinados pacientes de forma individual.

b) Polimorfismos genéticos asociados a calcificación arterial.

Desde hace ya décadas, ha habido un interés creciente en el estudio de los determinantes genéticos asociados a la calcificación arterial en la aterosclerosis (116).

La evidencia sugiere un componente genético en la presencia y extensión de la calcificación vascular. Estos determinantes genéticos, parecen ser comunes aunque parcialmente independientes de los involucrados en la aterosclerosis. Estudios tanto de histopatología y como de imagen in vivo con ultrasonido intravascular indican una relación estrecha entre medidas de aterosclerosis y calcificación arterial coronaria (49).

La prevalencia y cantidad de calcificación coronaria está significativamente relacionada con los factores de riesgo clásicos para enfermedad coronaria como edad, género, tabaquismo, colesterol, hipertensión arterial y sobrepeso. Sin embargo los factores de riesgo contribuyen en aproximadamente un 40% de la variabilidad interindividual observada en la cantidad de calcio coronario y al menos otro 40% es causado por factores genéticos. En el estudio Framingham

se estimaba que la heredabilidad de la calcificación de la aorta abdominal ajustado por los factores de riesgo fue del 49% (41).

Estos hallazgos son consistentes con la interpretación de que al menos algunos de estos factores genéticos son determinantes independientes de aterosclerosis, y calcificación vascular.

Los estudios que han examinado el papel de genes específicos en la calcificación arterial en humanos son limitados. Muchos de estos genes sintetizan proteínas que se sabe están involucradas en el proceso de la aterosclerosis:

- El enzima convertidor de angiotensina (ACE en inglés): El eje renina-angiotensina-aldosterona juega un papel importante en la aterosclerosis. Muchos ensayos clínicos aleatorizados han mostrado convincentemente la utilidad de agentes que alteran la actividad y receptores de angiotensina II en el tratamiento de la aterosclerosis, y otras patologías cardiovasculares (123, 124, 125). Clonación de genes humanos involucrados en codificación de ACE y el receptor de angiotensina II, han conseguido identificar muchos polimorfismos en esos genes, incluyendo el M235T, de inserción/delección en el gen de ACE, el A1166C, en el gen del receptor tipo 1 de la angiotensina II. Muchos estudios han demostrado la asociación entre polimorfismos en el gen de la ACE e infarto de miocardio y enfermedad coronaria, sin embargo esto no se ha confirmado en ensayos clínicos aleatorizados, por lo que el tema sigue en discusión. También se ha visto en estudios de pacientes con enfermedad y calcificación coronaria documentada, un posible papel de estos polimorfismos en la calcificación de la placa de ateroma.
- Apo-E: proteína que regula múltiples vías metabólicas y participa en distintos procesos de homeostasis. Kardina et al. estudiaron la posible implicación de alteraciones de esta proteína en la calcificación coronaria (126,127,128,129,130).
- E-selectina: las selectinas son moléculas de adhesión presentes en la superficie de los vasos. La expresión de E-selectina en las células endoteliales de los vasos sanguíneos

de los huesos, está implicada en la llegada de los progenitores hematopoyéticos y de osteoclastos al hueso (131, 132). Algunos estudios han demostrado que polimorfismos de E-selectina como S128R, aumentan la severidad de la aterosclerosis y la calcificación vascular (133).

- Metaloproteinasa 3 de matriz (MMP-3): proteínas implicadas en la formación y reabsorción del hueso y del cartílago. Se han localizado en zonas de depósito de calcio y fibrina en lesiones en arterias carótidas humanas, y podrían tener un papel en la calcificación arterial. Polimorfismos de esta proteína como 6A6A, ha sido relacionado con el grosor intima-media carotideo (134).
- Matrix Gla Protein (MGP): se han encontrado proteínas con abundante expresión en la medula ósea, también en zonas de mineralización de arterias con aterosclerosis. Su función no es aun bien conocida. Se han identificado numerosos polimorfismos en la codificación de esta proteína, se han relacionado de forma débil con la calcificación de la placa (135, 136).
- CC receptor de quimiocina 2 (CCR2): La proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), es una citoquina sintetizada por las células vasculares, que se traducen a través de CCR2. La inhibición de esta señal bloquea la formación de placa aterosclerótica. El polimorfismo Ile64, se ha asociado con una menor calcificación coronaria, tras ajustarlo por factores de riesgo (137).
- Receptor de estrógenos alfa (ER α): Los estrógenos tiene múltiples funciones a nivel de los huesos y a nivel vascular. El estado estrogénico y la osteoporosis se ha asociado con la calcificación aterosclerótica (138). Se ha estudiado la implicación del polimorfismo ER α en la calcificación de la placa aterosclerótica (139).
- Osteoprotegerina proteica (OPG): alteraciones de esta proteína están implicadas en la osteoporosis y en la calcificación arterial y aortica y de otras arterias largas (140).
- Ectonucleotido pirofosfatasa fosfodiesterasa 1 (ENPP1): mutaciones con pérdida de función de esta proteína han sido identificadas en calcificación arterial infantil (141).

- HDAC9 y RAP1GAP, se asociaron con calcificación de aorta abdominal, sin encontrarse asociación en el caso de la aorta torácica. La calcificación aortica es un importante predictor independiente de eventos cardiovasculares. En un metaanálisis de estudio del genoma completo, se obtuvieron SNPs asociados con la cantidad de calcificación aortica en aorta torácica descendente o aorta abdominal. Un aumento de la expresión de HDAC9 en las células musculares lisas vasculares humanas de la aorta, promovía la calcificación y reducía la contractilidad de las misma. Mientras que una inhibición de su expresión producía el efecto contrario. En ratones con deficiencia de proteína Gla de matriz (MGP), un modelo de calcificación vascular humana, los ratones que carecían de HDAC9 tuvieron una reducción del 40% en la calcificación aórtica y una mejor supervivencia. Identificando el primer locus de riesgo genético asociado con la calcificación de la aorta abdominal. Demuestra que HDAC9 promueve un fenotipo de células de músculo liso vascular osteogénico, aumentando la calcificación y reduciendo la contractilidad (142).

c) Relación entre marcadores génicos e imagen cardiovascular

Hay interés creciente actualmente en la relación entre estos marcadores genéticos y la pruebas de imagen de placa aterosclerótica.

En 2015, Yi-Cheng Chen et al. (143) publicaron un estudio, en una subpoblación de un estudio Taiwanés (144), sobre la asociación entre marcadores genéticos asociados a lípidos y el grosor de la íntima media carotideo. Se obtuvieron ocho SNP candidatos con asociaciones significativamente independientes con c-IMT: rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625. Dado que las asociaciones genotipo-rasgo están libres de ambigüedad temporal y confusión, esto indica que explorar los mecanismos subyacentes del engrosamiento del c-IMT que podrían usarse para la prevención temprana de la ECV.

Estudios con imagen de ultrasonido intracoronario, observaron que pacientes con determinada genotipo de la ACE, tenían un mayor calcificación intravascular y de las lesiones, y esto era independiente una vez ajustado por los factores de riesgo clásicos (125).

Otros polimorfismos asociados calcificación coronaria has sido evaluados. En un estudio de 2009, que se realizó utilizando el estudio MESA, se demostró que un modelo de predicción de calcificación coronaria basado en el estudio de 13 SPNs, y variables clínicas, fue superior de forma significativa a la predicción basada solo en SPN o solo en variables clínicas (145). Los 13 SPNs que demostraron valor predictivo fueron: rs278145, rs7756935, rs4681443, rs4851526, rs1952586, rs12432450, rs854542, rs916055, rs2695, rs1935941, rs699946, rs701203, rs18002906.

d) Utilidad clínica actual.

En la actualidad la genética esta tomando relevancia de forma exponencial en la practica clínica habitual, siendo muy útil con fines diagnósticos y terapéuticos.

En el estudio del riesgo cardiovascular, se ha estudiado ampliamente la implicación de las enfermedades genéticas de herencia mendeliana como la hipercolesterolemia familiare.

Sin embargo, ya se esta llevando a cabo la aplicación de polimorfismos asociados a riesgo cardiovascular global en la población, en prevención primaria. En España, dos compañías privadas, han producido un test de predicción de riesgo cardiovascular llamado Cardioincode que mejora la predicción basada en los FRCV y 11 SNP con asociación procedentes de estudios de GWAS.

3. HIPÓTESIS.

3- HIPÓTESIS.

3.1 Justificación del trabajo.

Las últimas guías de práctica clínica de cardiología tanto americanas como europeas de riesgo cardiovascular (52, 53), inciden en la importancia de nuevos marcadores en la estimación del riesgo individual de eventos cardiovasculares.

La revolución en este ámbito de las técnicas de imagen para estudio de la placa aterosclerótica preclínica y la calcificación vascular, ha proporcionado una herramienta muy útil para este propósito, con marcadores de imagen como el CCS, que ha demostrado ampliamente su utilidad como marcador de carga aterosclerótica total y de riesgo cardiovascular.

En los pacientes con diagnóstico de EAP, es frecuente la realización de pruebas de imagen, principalmente CTA aortoiliaco para su estudio, evaluación y planificación terapéutica. Estos pacientes tienen un alto riesgo cardiovascular de base, y es muy frecuente la aparición de eventos coronarios en su seguimiento, y especialmente en el periodo perioperatorio.

En estos pacientes sería de mucha utilidad una herramienta accesible durante la realización de pruebas de imagen de rutina, como la CTA, para evaluar parámetros de predicción de riesgo cardiovascular y probabilidad de eventos coronarios en el seguimiento. Esto podría permitirnos seleccionar aquellos paciente con mayor riesgo de eventos, en los que podría ser necesario ampliar el estudio con otras pruebas y poder optimizar el tratamiento, para evitar eventos clínicos mayores.

Sabemos que la calcificación arterial coronaria estimada con CCS mediante el índice de Agatston ha demostrado su utilidad y valor diagnóstico y pronóstico en cuanto a enfermedad arterial coronaria y riesgo de eventos. Su posible correlación con la calcificación a nivel del territorio vascular periférico podría ser muy útil como herramienta predictiva en estos pacientes.

Por otro lado, la utilización de estudios genéticos es cada vez más frecuente en el ámbito de la medicina. Los marcadores genéticos en aterosclerosis están a la orden del día. Se han estudiado múltiples polimorfismos del genoma asociados a mayor calcificación vascular. En este contexto también sería muy útil la implementación de estudio de polimorfismos genéticos asociados a mayor calcificación iliaca en EAP, y por tanto a mayor ICS.

3.2 Hipótesis.

La hipótesis de este trabajo se basa en la existencia de una correlación entre el score de calcio coronario y los scores de calcio en arterias ilíacas, usando en ambos el índice de Agatston. Tal exploración es interesante para mejorar las estrategias de evaluación de riesgo de pacientes con EAP, y el estudio preoperatorio de los mismos. Así como mejorar nuestro conocimiento de las manifestaciones sistémicas de la EAP. El ICS podría ser un marcador de carga aterosclerótica total y tener impacto en la predicción de eventos coronarios en pacientes con EAP.

Además, el estudio pretende evaluar cómo la inclusión del ICS en los modelos de evaluación del riesgo cardiovascular podría impactar en la estratificación de riesgo y en la toma de decisiones clínicas.

Si se establece una correlación positiva entre estos dos factores, esto podría llevar a la detección precoz de pacientes en riesgo de complicaciones coronarias, basado en la medida del calcio en arterias ilíacas. Este potencial vínculo podría revolucionar la evaluación del riesgo cardiovascular, mediante una nueva herramienta de imagen vascular. Identificando pacientes con mayor riesgo coronario a través de la medición del calcio arterial ilíaco, podría hacer posible más intervenciones proactivas y en última instancia evitar eventos.

Otra hipótesis, es que los valores elevados de calcificación en las arterias ilíacas no sólo están relacionados con la gravedad clínica de la EAP, sino también con la complejidad de las lesiones arteriales, según la clasificación TASC II.

Estas observaciones se han estudiado a nivel de la arteria coronaria, en donde se ha demostrado que la CCS se asocia de forma independiente con la puntuación de Syntax (un marcador de la complejidad de las lesiones coronarias) (108) (Anexo V) y la puntuación de Gensini (un marcador de la severidad angiográfica de la EAC) (Anexo VI).

Estos datos sugieren que la ICS podría representar el equivalente a CCS a nivel de las arterias ilíacas, pudiendo evaluar también la gravedad y complejidad de las lesiones de EAP de la misma manera en que se usa la CCS para evaluar la gravedad y complejidad de la EAC. Esto podría tener implicaciones en la planificación del tratamiento de la EAP.

También hipotetizamos, que los valores altos de ICS se asocian con un aumento de i-IMT medido por TC y ambos pueden representar nuevos marcadores sustitutos de la aterosclerosis en EAP, como lo son c-IMT a nivel carotídeo y el CCS en arterias coronarias. Este hallazgo sería de utilidad en la evaluación del riesgo cardiovascular individual de los pacientes con EAP que requieren intervención.

Además en hipótesis estos hallazgos se correlacionan con marcadores genéticos innovadores de riesgo cardiovasculares. Determinados polimorfismos de único nucleótido (SNP) asociados a lípidos, se han relacionado de forma significativa a mayor c-IMT, en estudios previos (143). Es posible que estos polimorfismos también se asocien a mayor calcificación en territorio vascular periférico y mayor ICS.

4. OBJETIVOS.

4. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo primario.

El objetivo primario de este estudio es investigar si el ICS, constituye un marcador innovador de carga aterosclerótica total, investigando si existe correlación entre el CCS y el ICS, usando en ambos el índice de Agatston.

4.2 Objetivos secundarios.

Dentro de los objetivos secundarios del estudio se encuentra investigar la posible relación entre la ICS obtenido mediante la adquisición de imágenes de CTA tras sumar la cantidad de calcio a nivel de las arterias iliacas y el i-IMT obtenido también por CTA, como posibles nuevos marcadores derivados de la imagen asociados a EAP.

Al mismo tiempo pretende valorar la relación del ICS con otros factores de riesgo cardiovascular clásicos, y con la presencia de antecedentes de cardiopatía isquémica. Así como evaluar estos hallazgos en subgrupos de pacientes de alto riesgo cardiovascular como los pacientes diabéticos.

También se pretende estudiar si el ICS puede predecir la gravedad y la complejidad de la EAP y si los pacientes con mayor ICS tuvieron mas complicaciones postoperatorias de tras una intervención de EAP.

Otro objetivo secundario es analizar la posible relación entre determinados SPNs de lípidos asociados a mayor c-IMT (143), con una mayor calcificación en arterias iliacas y en definitiva un mayor ICS.

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 Ámbito del estudio.

El presente trabajo se ha realizado por los servicios de Cardiología, Angiología y Cirugía Vascular y Radiodiagnóstico de un Hospital terciario (Hospital Clínico Universitario de Valladolid), con un protocolo de actuación común.

Se trata de tres servicios de referencia en su campo en el servicio de Salud de Castilla y León, con gran volumen de asistencia sanitaria, así como amplia experiencia en el área de la imagen cardiovascular de ambas especialidades, y un importante bagaje en el campo de la investigación clínica.

La población a estudio han sido pacientes del servicio de Angiología y Cirugía Vascular del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, con diagnóstico de EAP, realizado mediante valoración clínica y pruebas habituales, en los que se realizaba como prueba diagnóstica una CTA aorto-ilíaco. A estos pacientes durante la adquisición de dicho CTA, se medía el calcio en el eje arterial iliaco mediante el método de Agatston, y el i-IMT. Se les realizaba también un TC cardiaco sincronizado y se obtenía el CCS mediante el mismo método, analizado por radiólogos y cardiólogos expertos en imagen cardiovascular.

5.2 Diseño del estudio.

Se trata de un estudio observacional transversal, no aleatorizado, y unicéntrico, en el que se incluyeron pacientes con EAP del servicio del Angiología y Cirugía Vascular del Hospital Clínico de Valladolid, y su área de referencia, que precisaban un estudio de CTA como prueba

diagnóstica. Se midió del grosor íntima media de las arterias ilíacas (i-IMT) , el CCS y el ICS a todos ellos.

Los CTA fueron realizados desde octubre de 2019 hasta junio de 2021.

Se recogieron las características basales (edad y sexo), y antecedentes personales previos: el estado de fumador, factores de riesgo cardiovascular clásicos, antecedentes de cardiopatía isquémica, accidentes cerebrovasculares, además de la medicación crónica de los pacientes agrupada por grupos terapéuticos.

En el estudio realizado a todos los pacientes, se incluyó el análisis de los factores de riesgo cardiovascular siguiendo la práctica clínica habitual y utilizando las determinaciones de rutina del laboratorio del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

De forma sistemática se realizó una exploración física, incluyendo en ITB, y mediciones antropométricas (IMC). Además se realizó cribado de diabetes con determinación de glucosa basal y hemoglobina glicosilada, determinación de perfil lipídico con cifras de colesterol total, LDL, HDL, TG y lipoproteína A (LpA) y Apolipoproteína B (Apo B). A todos los pacientes se les realizó determinaciones de función renal (creatinina, urea), perfil hepático, hemograma, PCR y coagulación.

La extracción de la muestras sanguíneas para analíticas, se realizaron en extracciones del Hospital Clínico de Valladolid, según la rutina habitual en la consulta de angiología y cirugía vascular.

Las pruebas de imagen realizadas a criterio de médico responsable del paciente, de angiología y cirugía vascular. Realizándose todos ellos eco-doppler, CTA aorto-iliaco y TC cardiaco.

El estadio clínico de EAP se evaluó con la clasificación de Rutherford, y clasificación TASC II del Consenso Transatlántico Inter-Sociedad para el Manejo de la Enfermedad Arterial Periférica

con los datos de la exploración física, CTA y ecodoppler, como recomiendan las directrices internacionales actuales.

Además se realizó evaluación de las complicaciones en el postoperatorio de cirugía vascular de los pacientes intervenidos.

Se extrajo a los pacientes del estudio una muestra de sangre, en un tubo de 10cc de EDTA para obtener ADN y plasma con el fin de realizar una genoteca y seroteca que nos permitió ampliar estudios a nivel genético.

Las extracciones de la muestra de sangre para el estudio genético, se extrajeron en los meses de abril a septiembre de 2022, por una enfermera de la consulta de angiología y cirugía vascular del Hospital.

De todos los sujetos de la muestra, se seleccionaron al azar a 25 sujetos que tenían un ICS elevado mediante el uso del valor mediano para el ICS obtenido en nuestro grupo de estudio.

Los controles fueron 25 sujetos que tenían una un ICS bajo usando el mismo valor mediano de la muestra del estudio. Todos los casos y controles fueron genotipados. Se estudiaron específicamente los 8 SPNs de loci relacionados con lípidos, que mostraron asociaciones significativamente independientes con una prueba de imagen como el c-IMT en estudio previo (143): rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625.

Todos los datos obtenidos se recogieron de forma sistemática y rigurosa en una base de datos generada por el programa SPSS®, con el fin de su análisis y realizar pruebas estadísticas.

5.3 Pacientes incluidos en el estudio.

Se reclutaron un total de 49 pacientes, mayores de 18 años, con diagnóstico EAP de la consulta de angiología y cirugía vascular del Hospital Clínico de Valladolid, que precisaban un estudio de CTA como prueba diagnóstica. Los pacientes fueron reclutados desde octubre de 2019 hasta junio de 2021.

5.4 Consideraciones éticas.

Antes de la recogida de datos, se obtuvo la aprobación del comité de ética de nuestro Hospital, para garantizar las condiciones éticas del trabajo así como la privacidad del paciente y la protección de datos. El cumplimiento de las directrices éticas (Declaración de Helsinki) se ha respetado durante todo el estudio.

Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado por escrito, después de haber sido informados sobre el protocolo del estudio, incluyendo la cesión de muestras para estudios biológicos y genéticos.

5.5 Variables analizadas.

Para cada paciente incluido en el estudio se realizó una historia clínica detallada, con características basales y antecedentes del paciente, además de la medicación crónica agrupada por grupos terapéuticos.

Se realizó de forma rutinaria una exploración física general y específica.

Se estudiaron de los factores de riesgo cardiovascular siguiendo la práctica clínica habitual y utilizando las determinaciones incluidas en la rutina del laboratorio del Hospital Clínico

Universitario de Valladolid. De una forma sistemática se han determinado mediciones antropométricas y analíticas.

Todos los pacientes requerían como prueba diagnóstica la realización de un CTA aortoíaco y cardiaco. Se ha medido el i-IMT, CCS e ICS.

Se ha extraído también un tubo de 10cc de EDTA para obtener ADN y plasma con el fin de realizar una genoteca que nos permitió ampliar estudios a nivel genético.

Se recogen por tanto las siguientes variables:

- Variables demográficas: sexo, edad.
- Variables antropométricas: peso, talla, IMC.
- Variables clínicas:
 - Factores de riesgo cardiovascular clásicos: Antecedentes de estado de fumador, hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus, obesidad.
 - Enfermedad aterosclerótica: cardiopatía isquémica, accidentes cerebrovasculares.
 - Estadio clínico de EAP según clasificación de Rutherford y TASC. Índice tobillo-brazo.
 - Medicación crónica.
- Variables analíticas: hemograma y bioquímica con glucosa basal y hemoglobina glicosilada, determinación de perfil lipídico con cifras de colesterol total, LDL, HDL, TG y LpA y LpB.
- Variables de imagen cardiovascular: i-IMT, CCS e ICS.

- Variables genéticas: SNPs en loci relacionados con lípidos asociados a mayor c-IMT: rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625.

5.6 Exploraciones hemodinámicas no invasivas.

Se realizó una exploración física para la detección de los pulsos femorales, poplíteos y distales (pedio y tibial posterior) seguido de la determinación del ITB. Se consideraron patológicos valores inferiores a 0.9 o superiores a 1.2. Posteriormente realizó un estudio de la arterias de los miembros inferiores mediante ecodoppler para detectar lesiones estenóticas u oclusivas.

5.7 Análisis de imagen.

Protocolo de CTA.

Todos los exámenes de TC se realizaron con el equipo REVOLUTION CT ES General Electric Healthcare® (United States). El protocolo de exploración incluyó estudios centrados en arterias coronarias y arterias iliacas sin contraste intravenoso, para el cálculo de la ICS y del CCS.

Posteriormente se realizó el estudio con contraste intravenoso que incluía aorta torácica y abdominal, arterias iliacas y femorales.

El campo de exploración para el protocolo fue desde la base de cuello hasta del sínfisis púbica.

Los parámetros de la exploración fueron los siguientes: voltaje de 100 kV, cortes de 0,6 mm, 5 mm en la fase arterial, utilizando una configuración del detector de 64 × 0,6 mm, un paso de 0,8 y un tiempo de rotación de 0,28 s. La fase arterial se obtuvo administrando 70 ml de contraste

yodado (320 mg/ml, VISIPAQUE, GE HEALTHCARE BIO-SCIENCES®) a través de acceso venoso antecubital con una bomba intravenosa continua (MEDTRON Saarbrucken, Alemania e INYECTOR ACCUTRON CT-D A RED GE HEALTHCARE BIO-Science®), en una tasa a un volumen minuto de 5 ml/s. La adquisición de imágenes se iniciaba automáticamente tan pronto como se alcanzaba el umbral de 100 unidades Hounsfield (UH). Se utilizaron filtros estándar y algoritmos de reconstrucción después de lo cual los conjuntos de datos se transmitirán a la estación de trabajo para un análisis adicional.

El ICS se ha calculado con la estación de postprocesamiento AW Server 3.2 EXT. 2.0 GENERAL ELECTRIC HEALTHCARE® utilizando un software específico (SMARTSCORE 4.0 GENERAL ELECTRIC HEALTHCARE), según el método Agatston.

La puntuación de las calcificaciones en la pared arterial comenzaba en el origen de las arterias ilíacas comunes de la aorta y terminaba en el nivel del origen de las arterias femorales.

Las áreas calcificadas se definían como aquellas con una densidad de al menos 130 UH a lo largo de las arterias ilíacas; estas áreas serán reconocidas y coloreadas automáticamente por el software de procesamiento posterior, y luego se seleccionaron manualmente para cada corte individual.

La cantidad de calcio en la pared arterial se ha calculado individualmente para cada arteria ilíaca común, externa e interna (izquierda y derecha). Los ICS izquierdo y derecho (L-ICS y R-ICS, respectivamente) se han obtenido mediante la suma de la cantidad de calcio en las arterias ilíacas común, externa e interna izquierda y derecha, y el ICS total se obtuvo mediante la suma de R-ICS y L-ICS.

Cálculo del i-IMT.

El análisis de la pared de la arteria iliaca se realizó con la misma estación de postprocesamiento (AW Server 3.2 EXT. 2.0 GENEREAL ELECTRIC HEALTHACARE), mediante la superposición/fusión de los datos obtenidos durante la exploración del TC, obteniendo imágenes codificadas por colores. Eso ha permitido una correcta demarcación de la pared vascular.

El grosor de la pared vascular se midió en una sección transversal de la arteria intacta, utilizando orientaciones doble oblicuas. Se realizaron varias mediciones en segmentos de arteria sin lesiones, se excluyeron segmentos con calcificaciones extensas y el segmento con el valor más alto de i-IMT será grabado e incluido en la base de datos. Para cada extremidad inferior se ha calculado un i-IMT medio y se ha determinado un i-IMT promedio para cada paciente como el valor promedio entre el i-IMT izquierdo y derecho.

Clasificación TASC II (Anexos V y VI).

Se ha utilizado la clasificación TASC II del Consenso Transatlántico Inter-Sociedad para el Manejo de la Enfermedad Arterial Periférica con los datos de la exploración CTA y ecodoppler. Según esta clasificación, hay cuatro tipos de lesiones, que son las siguientes:

1. Lesiones tipo A: estenosis unilaterales o bilaterales de la arteria ilíaca común (CIA) y lesiones cortas (<3 cm) de la arteria ilíaca externa (EIA).
2. Lesiones tipo B: estenosis de la aorta infrarrenal (<3 cm de longitud), oclusión unilateral de la arteria ilíaca común, estenosis única o múltiple de la arteria ilíaca externa que no afecta a la arteria femoral común (CFA), entre 3 y 10 cm de longitud total u oclusión unilateral del EIA que no involucre a la CIA (arteria ilíaca común) o CFA (arteria femoral común).

3. Lesiones tipo C: son oclusiones de CIA bilaterales, estenosis de EIA bilateral que varía de 3 a 10 cm que no involucra el origen de CFA, estenosis u oclusión de EIA unilateral que se extiende a la arteria de la CIA o el origen del CFA, y está fuertemente calcificada pero no extendida oclusión de la EIA.
4. Lesiones de tipo D: aquellas que involucran oclusión aortoílica infrarrenal, lesión difusa de la arteria aorta, iliaca o biliaca, estenosis unilateral extensa de la CIA, EIA o CFA, y oclusiones bilaterales de la EIA y / o CIA.

Las lesiones TASC A y B muestran buenos resultados después del tratamiento endovascular, mientras que las lesiones TASC C y D se consideran más complejas y, por lo general, son susceptibles de cirugía abierta.

5.8 Análisis genético.

La extracción de ADN total se llevó a cabo a partir de sangre periférica mediante el procedimiento estándar de fenol-cloroformo: Las células nucleadas se han aislado mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (en 50mL de H₂O bidestilada durante 30 minutos a 1500 rpm y 4°C). Tras la recuperación de la interfase creada y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavan las células mononucleadas en tampón fornace (0.25M sacarosa, 50mM Tris-HCl pH=7.5, 25mM KCl y 5mM MgCl₂). Se precipitan mediante centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos. El botón de células nucleadas se resuspende en tampón fornace a una concentración estimada de 5x10⁶ células/mL, tras lo cual se añade EDTA 0.5M pH=8 (concentración final 10mM), SDS (concentración final 1%) y proteinasa K. La mezcla se incubó a 55° C durante 8-16 horas. Tras la incubación, se extrae y purifica el ADN con una mezcla de fenol tamponado a pH=8 y CIAA (cloroformo: alcohol isoamílico 24:1): tras centrifugación el ADN permanece en la fase acuosa. Se añade etanol absoluto frío a la fase acuosa para precipitar el ADN, se lava con etanol al 70% y se resuspende en agua estéril. Las

muestras se almacenarán en un congelador a -80°C situado en el laboratorio de cultivos celulares del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Se estudiaron específicamente los 8 SNPs en los 174 loci relacionados con lípidos, que mostraron asociaciones significativamente independientes con una prueba de imagen como el c-IMT (142): rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625.

5.9 Análisis estadístico.

Los datos se han analizado utilizando el software SPSS 23.0 (Chicago, Ill, Inc., EE. UU.).

Se ha estudiado la normalidad de la distribución de las variables cuantitativas. Las variables continuas se presentan con la media \pm desviación estándar. Los datos continuos se han analizado mediante la prueba de t para medias independientes y la prueba de Mann-Whitney.

Las variables categóricas se han expresado en números y porcentajes. Los datos categóricos se compararon utilizando la prueba exacta de Fischer.

Los datos recopilados se sometieron a un riguroso análisis estadístico para abordar los objetivos de manera efectiva:

- Análisis de correlación: se calculará el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la fuerza y dirección de la posible asociación entre las puntuaciones de CCS y las puntuaciones de ICS mediante el método de Agatston. Este análisis ayudará a determinar si existe una correlación significativa entre estos dos factores.
- Modelo de regresión: se emplearán múltiples modelos de regresión lineal para explorar la utilidad predictiva de las puntuaciones de calcio de la arteria íliaca para las

complicaciones coronarias. Este modelo tendrá en cuenta varias covariables, incluida la edad, el sexo y los factores de riesgo cardiovascular tradicionales. Este paso tiene como objetivo discernir si las puntuaciones de calcio de la arteria ilíaca podrían contribuir a predicciones más precisas de las complicaciones coronarias.

- Análisis de subgrupos: se realizaron análisis por subgrupos de pacientes con diabetes mellitus e insuficiencia renal para examinar si la correlación observada difiere entre pacientes con diferentes perfiles de riesgo cardiovascular. Esto permitirá una mejor comprensión de las posibles variaciones en las puntuaciones de calcio de la arteria coronaria e ilíaca dentro de subconjuntos específicos de pacientes.

El umbral de significación estadística se ha establecido en $p \leq 0.05$ para dos colas.

Para el análisis estadístico de los datos de genéticos del estudio casos control, comparando la presencia de los SPNs de loci asociados a lípidos, se utilizó el test Chi cuadrado, utilizando la tabulación cruzada.

6. RESULTADOS.

6. RESULTADOS.

6.1 Análisis de la cohorte.

Se reclutaron 49 pacientes, todos ellos mayores de 18 años de edad, con una edad media de 66.3 años, siendo el 85.7% varones y un 14.3% de mujeres.

Todos ellos tenían algún grado de enfermedad arterial periférica de extremidades inferiores: el 6.1% estadio 1 según la clasificación de Rutherford (Anexo II), el 12.2% estadio 2, el 67.3% estadio 3, un 8.2% estadio 4, y el 6.1% restante estadio 5.

Además, el 51,6% de los pacientes tenían diabetes mellitus, el 74.19% hipertensión arterial, el 74.18% dislipemia, y el 3,2% tenía diagnosticado insuficiencia renal. El 93.4% de los pacientes tenían antecedentes de tabaquismo. El 55% de la muestra tenían diagnóstico clínico de cardiopatía isquémica. La siguiente tabla proporciona una visión general de las características de la muestra estudiada.

Tabla 4. Características basales de los pacientes incluidos en el estudio.

	%	Sin cardiopatía isquémica	Cardiopatía isquémica	P	OR	95% CI OR
Edad	65.65±6.5					
Varones	83.86%	58.06	25.80	0.18	1.77	0.77-4.07
Diabetes Mellitus	51.60%	38.70	12.90	0.16	0.66	0.38-1.15
Enfermedad renal crónica	3.22%	0	3.22	<0.001	-	-
Hipertensión arterial	74.19%	51.61	22.58	0.43	1.31	0.68-2.50
Dislipemia	74.18%	48.38	25.80	<0.001	3.73	1.67-8.33
Tabaquismo	93.34%	67.74	25.60	0.08	0.38	0.13-1.05

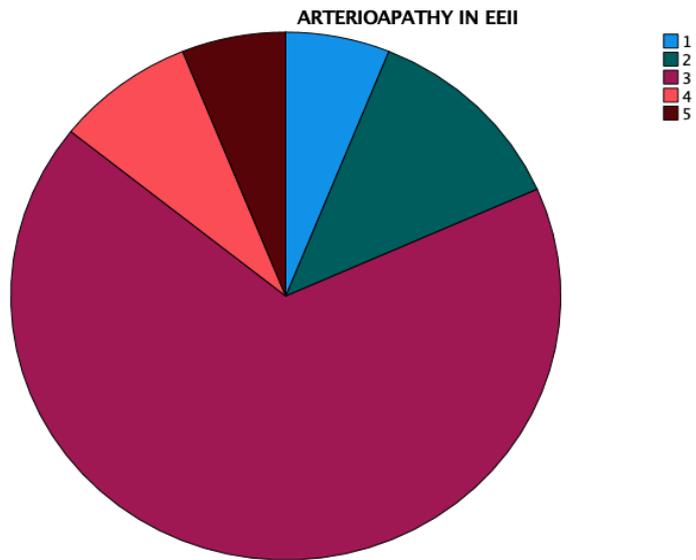
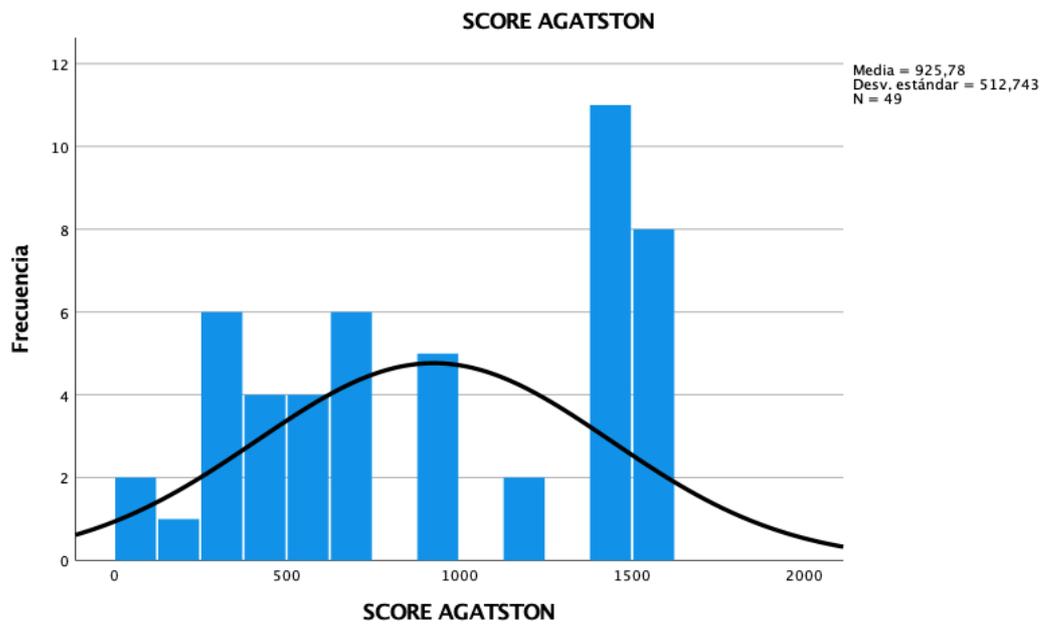
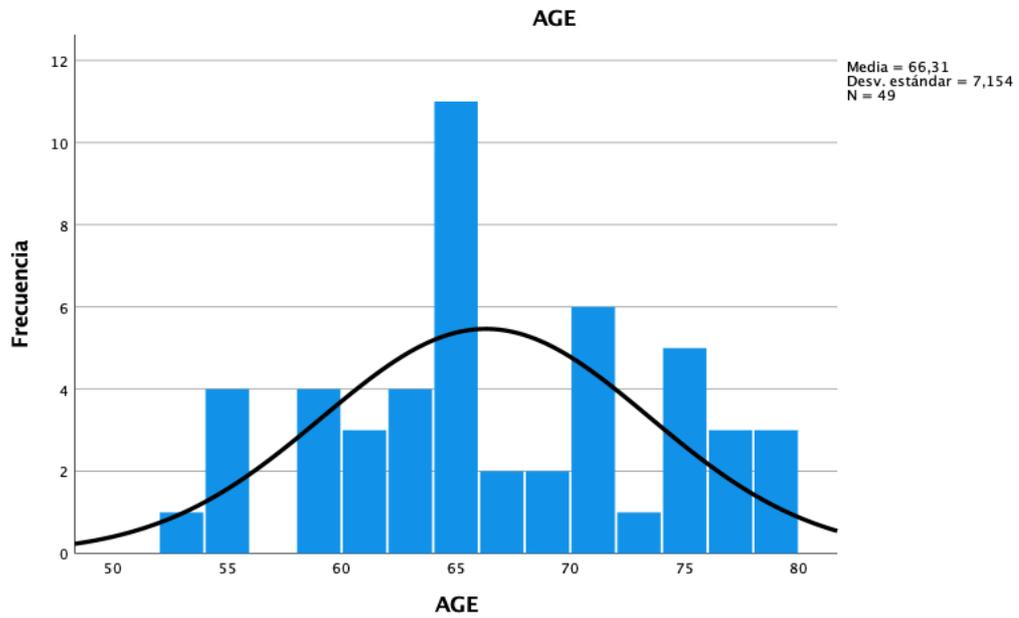
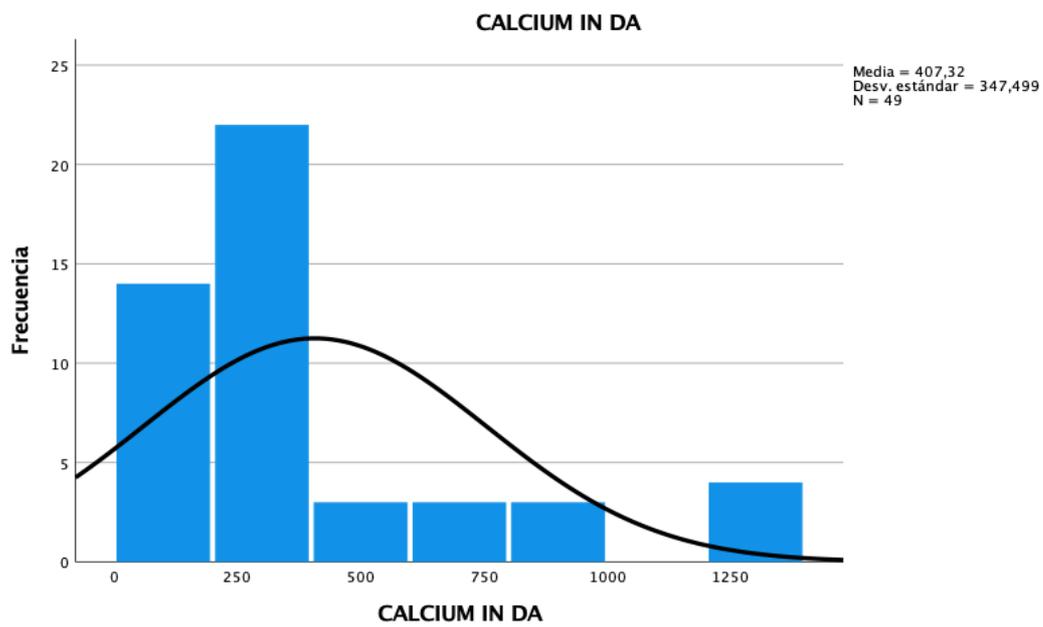
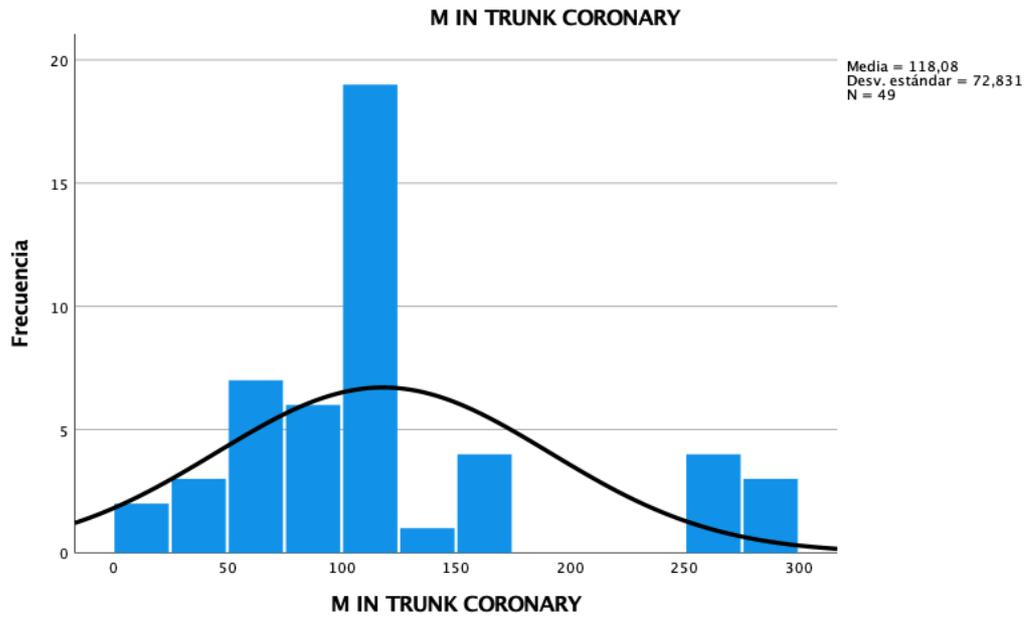
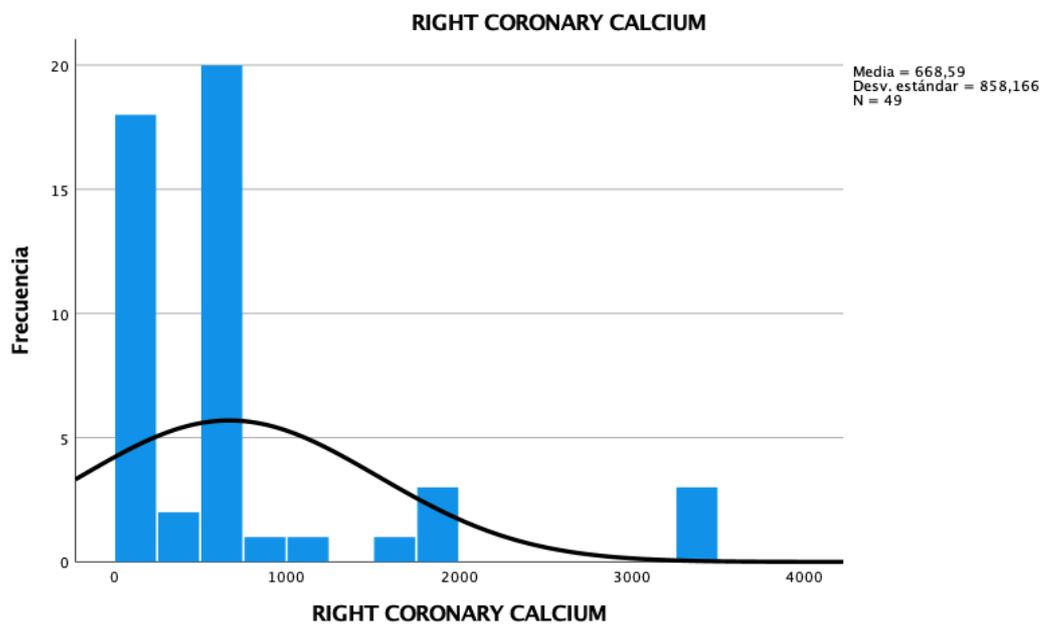
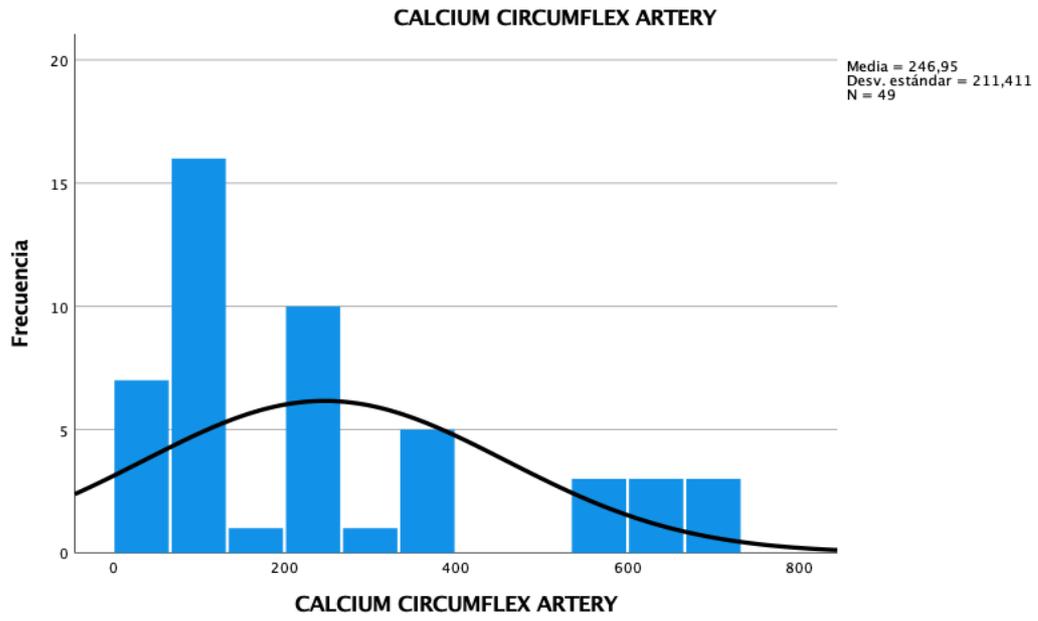


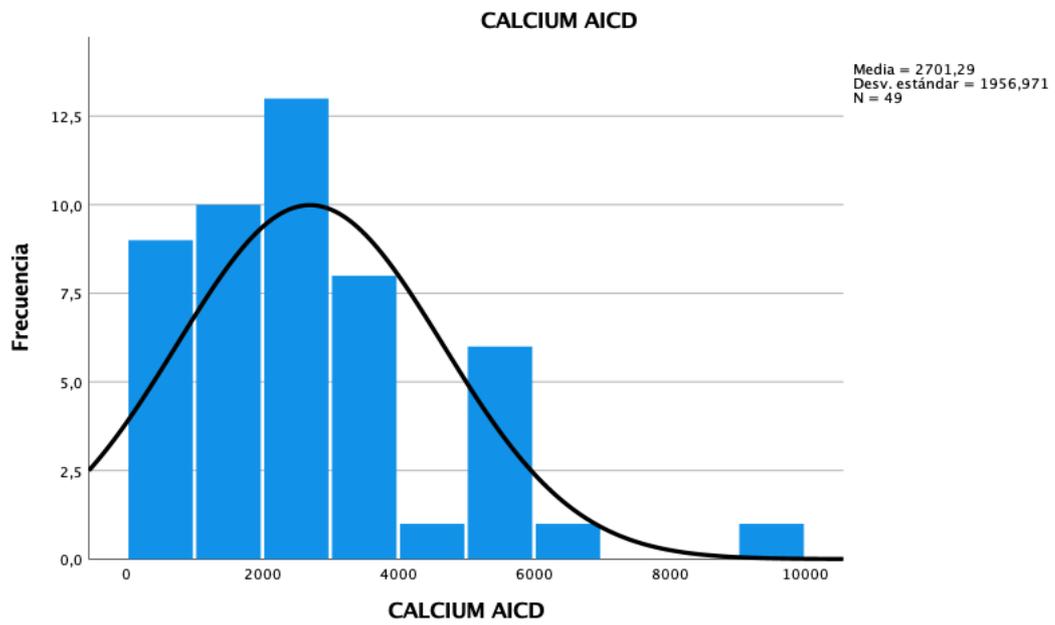
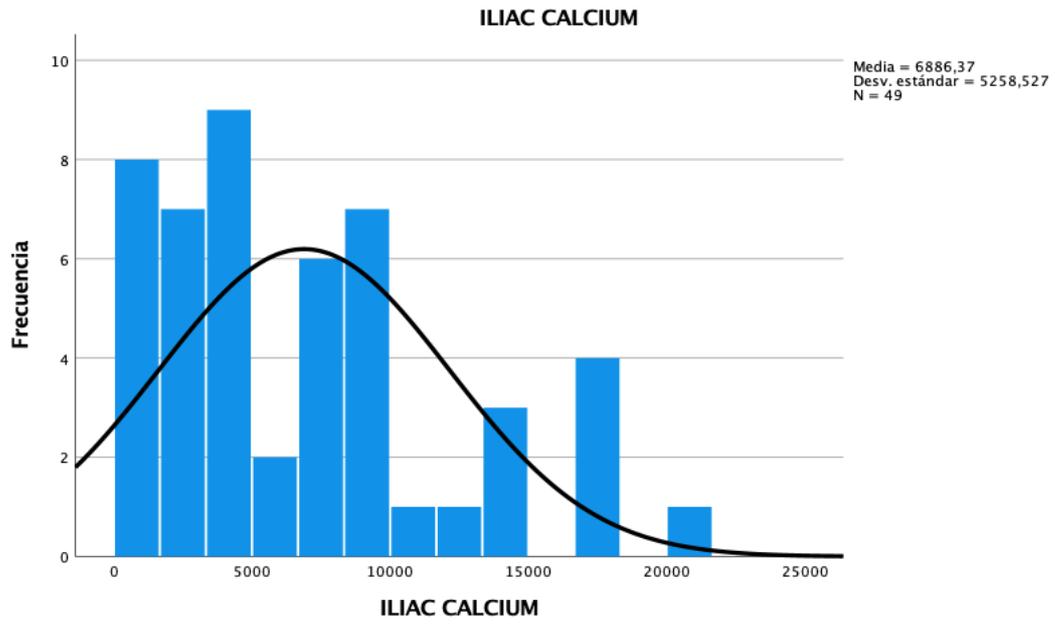
Ilustración 24. Gravedad de la enfermedad arterial periférica (EAP) de extremidades inferiores de los pacientes de la muestra por la clasificación de Rutheford.

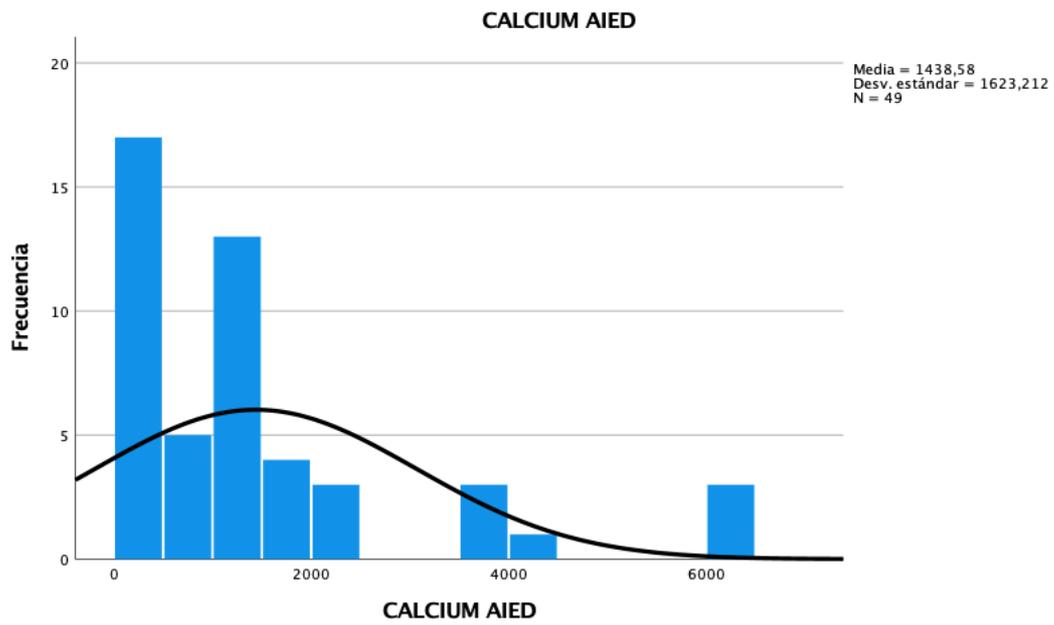
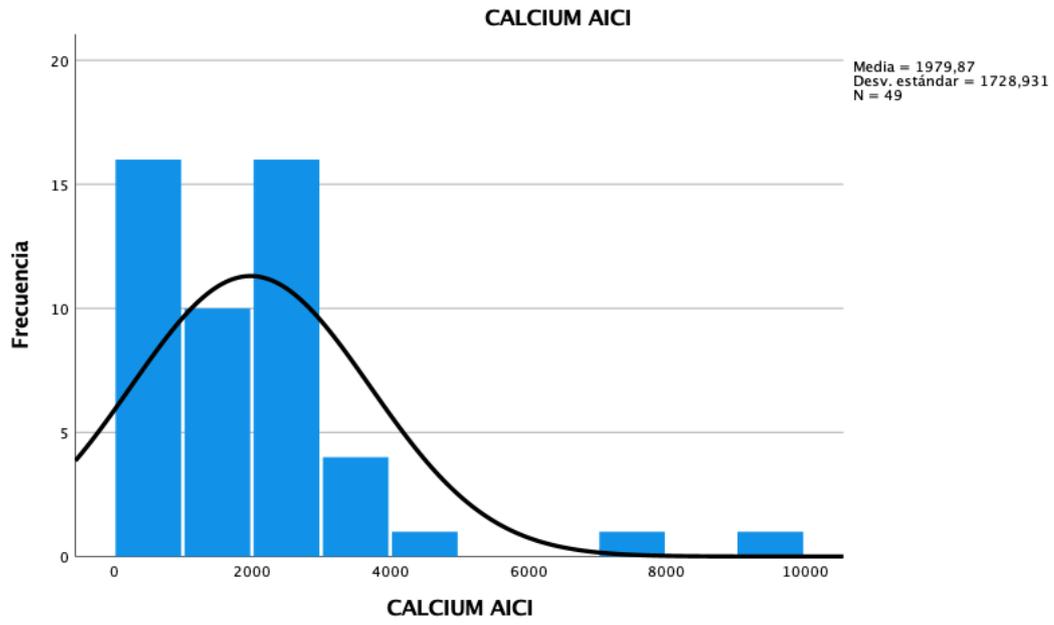
Se ha estudiado la normalidad de la distribución de las variables cuantitativas.

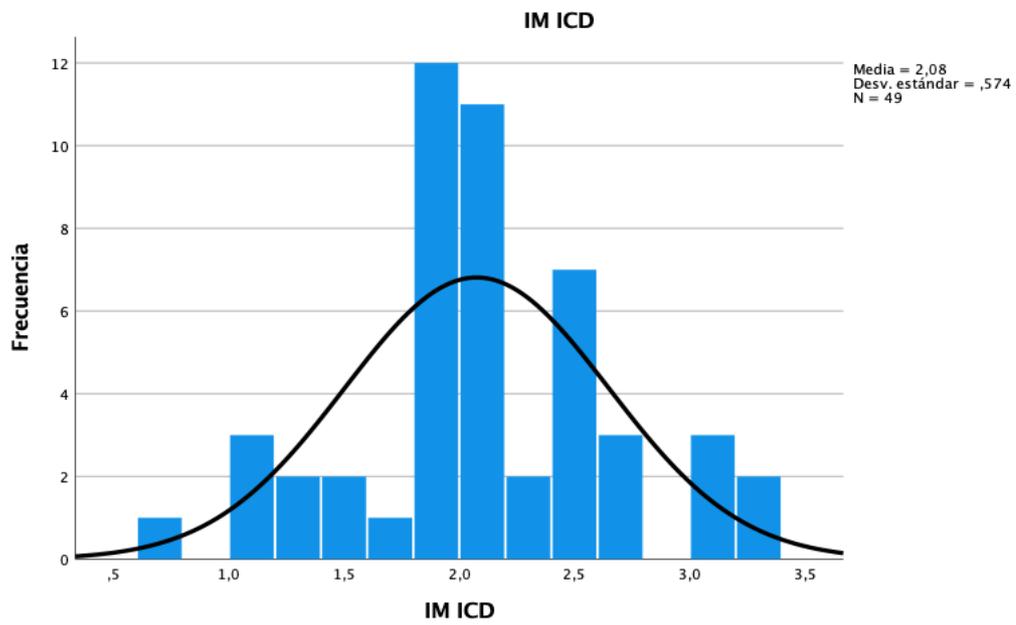
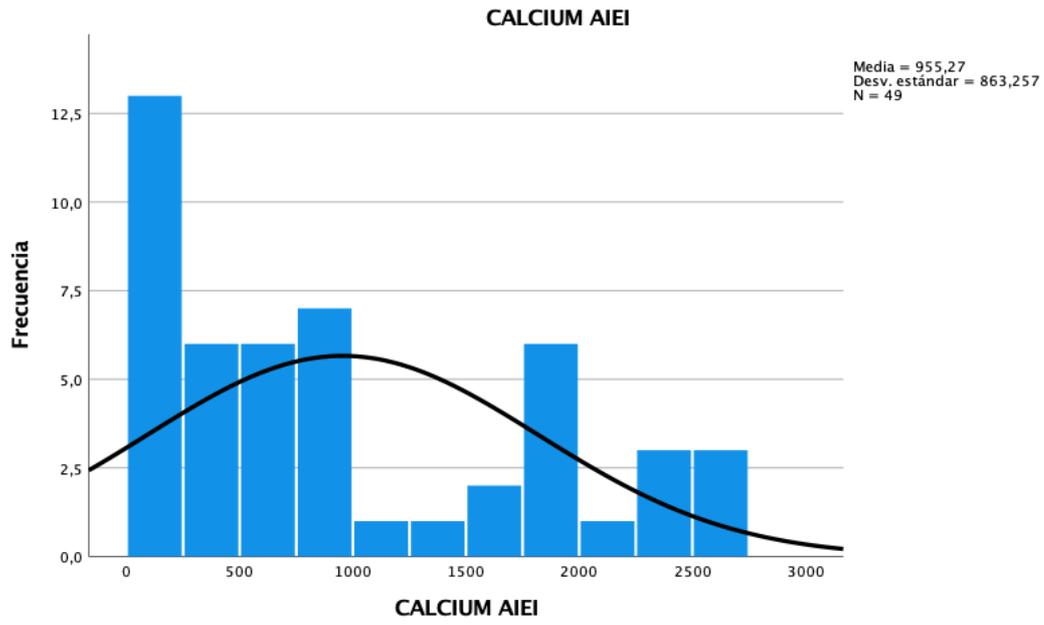


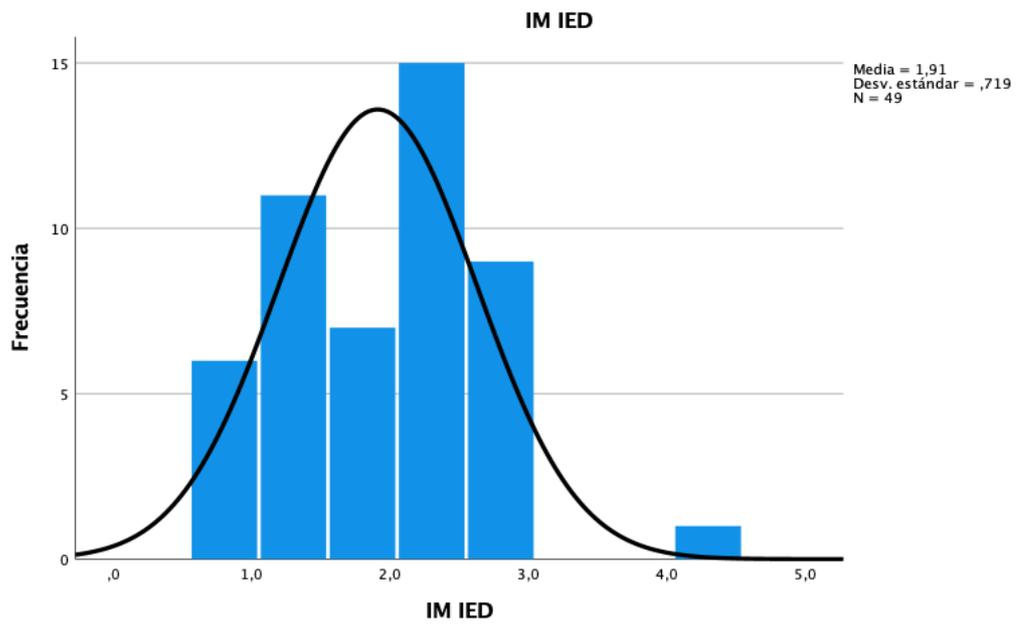
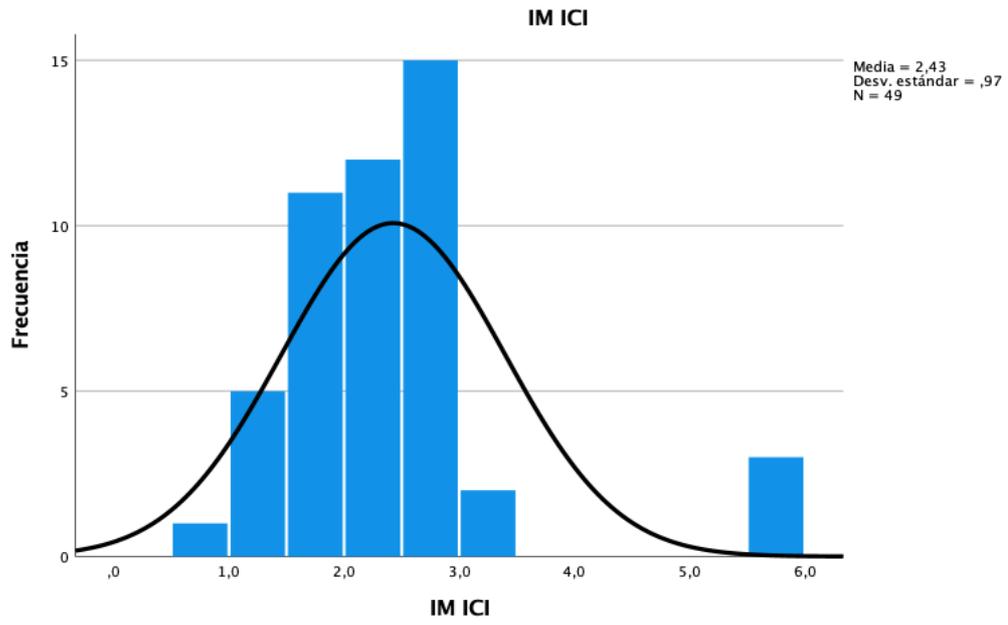


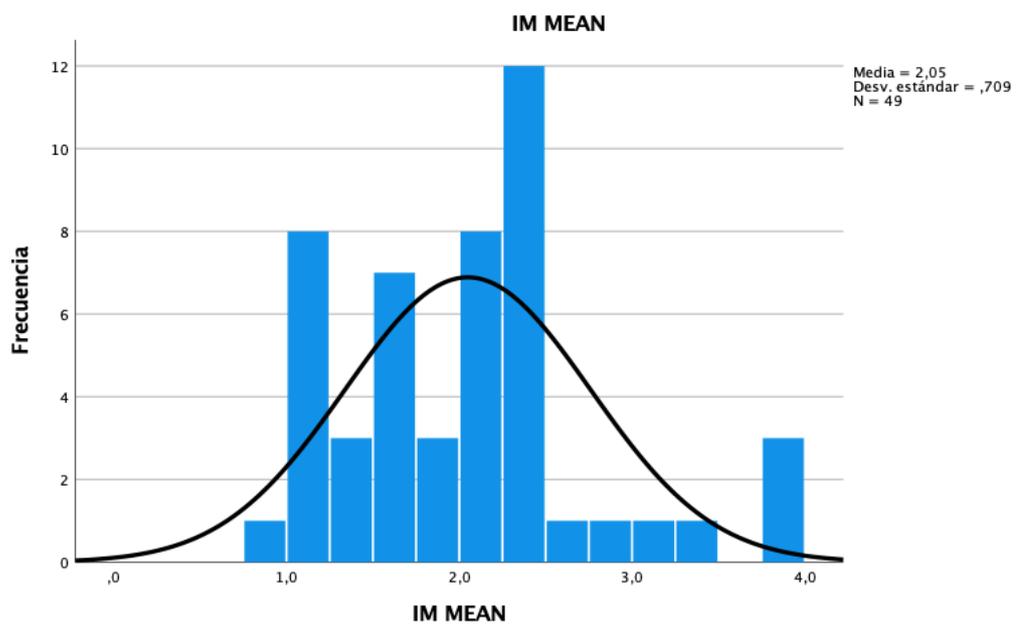
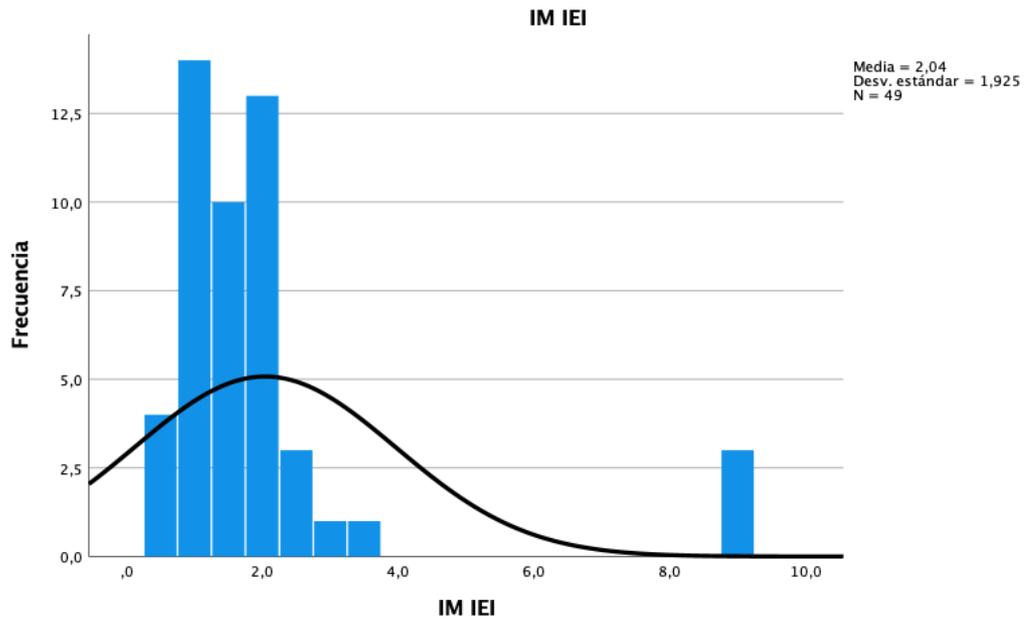












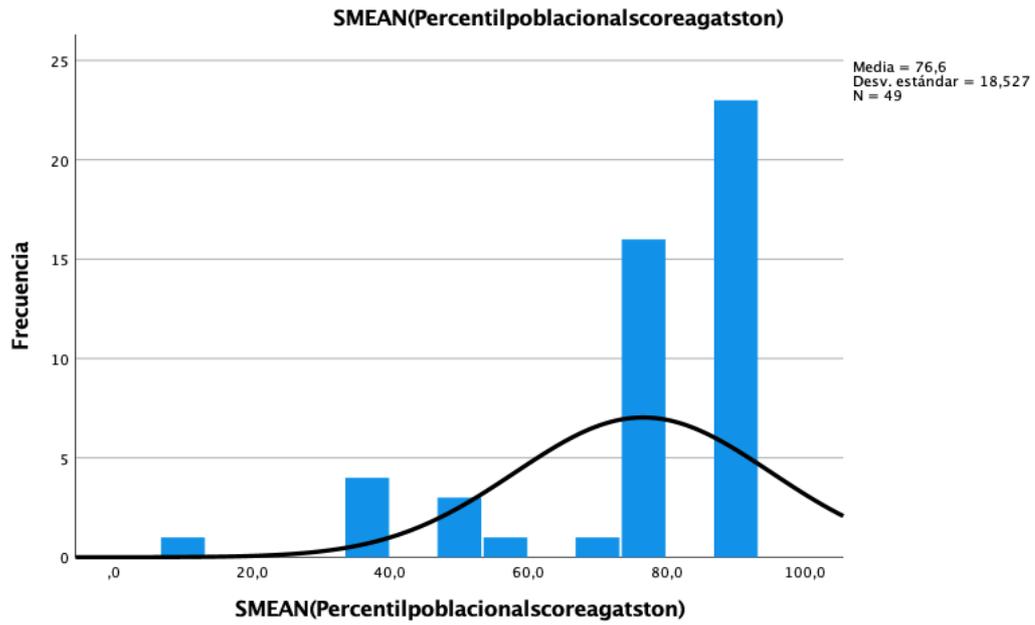


Ilustración 25. Histogramas del estudio de distribución normal de las variables cuantitativas analizadas en la muestra.

Tabla 5. Análisis de los datos de imagen de la población a estudio.

	Media	Mediana	Desv.	Min	Máx	Percentil		
						25	50	75
Agatston	925.78	899.74	512.74	38	1598	387.0	899	1465
Calcio TCI	118.08	105.72	72.83	19	298	78	105.72	123.36
Calcio DA	407.32	358.08	347.49	7	1371	169	358.08	500
Calcio CX	246.95	228.92	211.41	11	712	89.5	228.92	377
Calcio CD	668.59	555.40	858.16	0	3469	77.0	555.40	654.5
Calcio VAo	147.36	161.86	98.02	4	576	107.5	162.86	161.86
Calcio ilfaco	6886.37	5066.00	5258.5	52	20335	2325.5	5066	9807
Calcio AICD	2701.29	2335.00	1956.9	52	9382	1198	2335	3803
Calcio AICI	1979.87	1784.00	1728.9	38	9549	723	1784	2729
Calcio AIED	1438.58	1024.00	1623.2	20	6230	180	124	1763.5
Calcio AIEI	955.27	706.00	863.25	0	2710	143	706	1835
IM ICD	2.076	2.000	0.5739	0.7	3.3	1.850	2	2.5
IM ICI	2.426	2.300	0.9697	0.8	5.6	1.900	2.3	2.6
IM IED	1.910	2.100	0.7189	0.8	4.4	1.300	2.1	2.4
IM IEI	2.041	1.600	1.9246	0.5	9.1	1.200	1.6	2.15
IM medio	2.049	2.125	0.7095	0.9	3.8	1.487	2.125	2.4
SMEAN *	76.596	80.000	18.526	10	90.0	74.643	80	90

6.2 ICS e i-IMT como nuevos marcadores de carga aterosclerótica total.

Analizando los datos de la muestra se obtuvo una correlación positiva entre el CCS y el ICS, ambos por el método de Agatston que fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

También se encontró una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,001$), entre el i-IMT y el ICS, medidos ambos por TC.

Sin embargo no se demostró correlación estadísticamente significativa entre el CCS y el i-IMT ($p = 0,13$).

Tabla 6. Correlación Score Agatston coronario (CCS) - calcio arterial iliaco (ICS), Grosor íntima-media iliaco (i-IMT) - calcio arterial iliaco (ICS) y Score Agatston coronario (CCS) - grosor íntima-media iliaco (i-IMT).

	Correlación de Pearson	Sig. (Bilateral)
Score Agatston coronario (CCS) - calcio arterial ilíaco (ICS)	0.34	<0.001
Grosor íntima media ilíaco (i-IMT) - calcio arterial ilíaco (ICS)	0.352	<0.001
Score Agatston coronario (CCS) - Grosor intima-media ilíaco (i-IMT)	-0.095	0.13

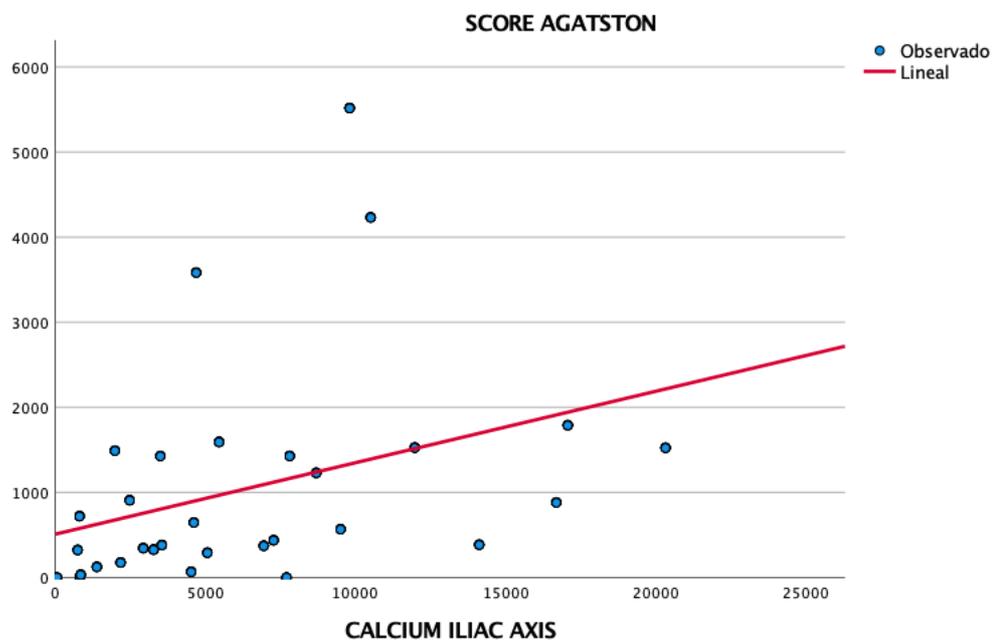


Ilustración 26. Correlación entre el Score Agatston coronario (CCS) y el Score de calcio en el eje arterial iliaco (ICS).

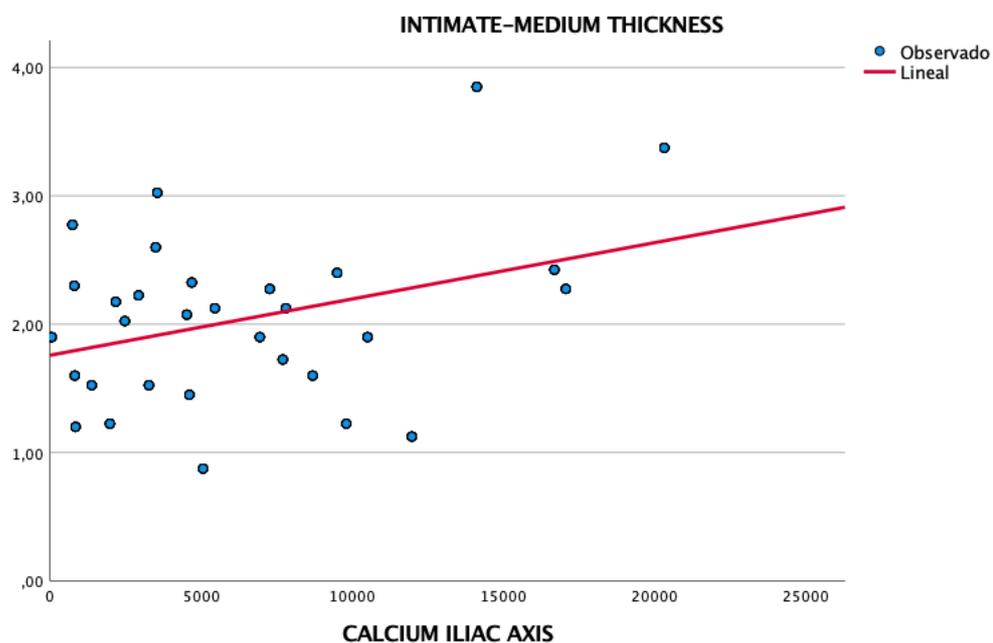


Ilustración 27. Correlación entre el grosor intima-media ilíaco (i-IMT) y la cuantificación de calcio arterial iliaco (ICS).

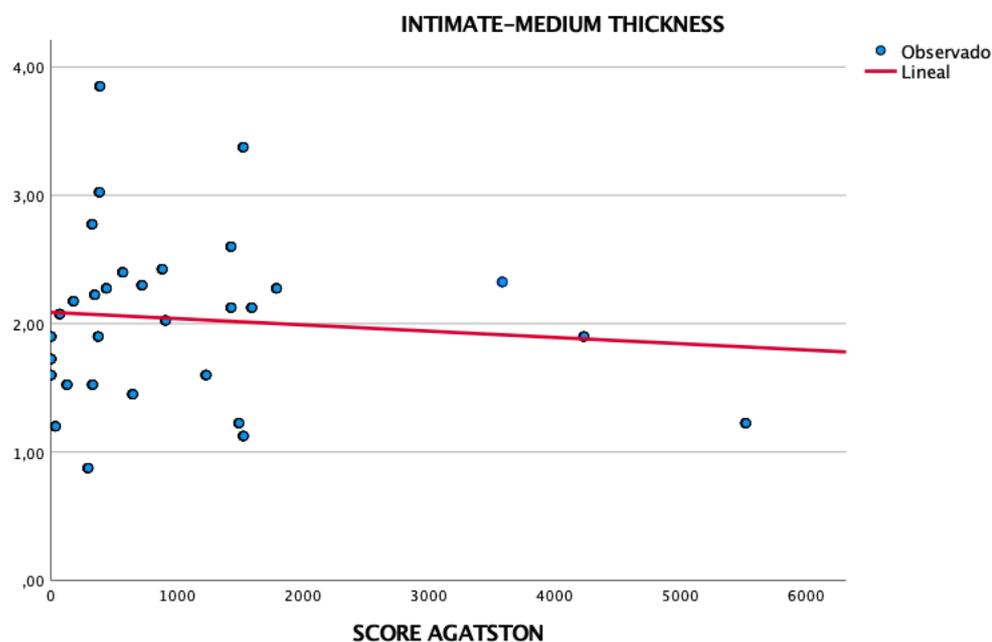


Ilustración 28. Correlación entre el grosor intima-media iliaco (i-IMT) y score Agatston coronario (CCS).

En el estudio de la correlación entre el valor de ICS y el CCS en cada una de las arterias coronarias principales se observó que la correlación entre el ICS y el CCS en el tronco coronario izquierdo (TCI) fue estadísticamente significativo ($p = 0.041$, $p < 0.05$). No se obtuvo una correlación estadísticamente significativa entre el ICS y el CCS en arteria descendente anterior ($p = 0.183$) ni coronaria derecha ($p = 0.053$) ($p > 0.05$).

No hubo relación lineal estadísticamente significativa entre el ICS y el calcio valvular aórtico: Correlación de Pearson (0.277), con significación bilateral 0.054 (> 0.05)).

Tabla 7. Correlación entre el calcio arterial iliaco (ICS) y el calcio mediante Agatston en cada una de las arterias coronarias (TCI, DA y CD) y el calcio valvular aórtico.

	Correlación de Pearson	Sig. (Bilateral)
ICS – CCS TCI	0.293	0.041 (<0.05)
ICS – CCS DA	0.193	0.183
ICS – CCS CD	0.718	0.053
ICS – Calcio valvular aórtico	0.277	0.054

Se observó que el valor medio de ICS era mayor en pacientes con antecedentes de cardiopatía isquémica de forma estadísticamente significativa. El nivel medio de ICS fue de $5.785,41 \pm 5.208,47$ para los pacientes sin cardiopatía isquémica y de $7.783,44 \pm 5.074,01$ para los pacientes cardiopatas ($p=0,006$).

También se obtuvo un valor medio del CCS por Agatston mayor en pacientes con cardiopatía isquémica que en pacientes sin ella, y esto fue estadísticamente significativo. La puntuación media de CCS por Agatston fue de $815,36 \pm 949,08$ para pacientes sin cardiopatía isquémica y de $1.616,11 \pm 1.707,17$ para pacientes con cardiopatía ($p < 0,001$).

No hubo relación estadísticamente significativa entre el ICS y las complicaciones postoperatorias en los pacientes que fueron a intervención por cirugía vascular de su arteriopatía periférica ($p=0,42$).

En el análisis de regresión lineal múltiple, se demostró una relación estadísticamente significativa entre el ICS, el CCS por Agatston, el i-IMT, la diabetes mellitus, la enfermedad

renal crónica, la hipertensión arterial y el tabaquismo. La única variable que no mostró relación estadísticamente significativa con el ICS fue la dislipidemia.

Tabla 8. Análisis de regresión lineal múltiple de relación entre la cuantificación de calcio en el eje iliaco (ICS) y las variables independientes: edad, sexo, diabetes, enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, dislipemia y tabaquismo.

	Coeficiente	P	OR	Mínimo	Máximo
Score Agatston (CCS)	1.808	0.000	0.438	1.362	2.255
i-IMT	3112.190	0.000	0.388	2239.479	3984.901
Cardiopatía isquémica	-1178.994	0.082	-0.102	-2507.237	149.248
Diabetes mellitus	-1966.859	0.002	-0.188	-3215.808	-717.910
Enfermedad renal crónica	11075.479	0.000	0.374	7948.043	14202.914
Hipertensión arterial	2271.610	0.001	0.190	988.803	3554.417
Dislipidemia	-128.929	0.844	-0.011	-1422.188	1164.330
Tabaquismo	-1063.292	0.355	-0.050	-3323.442	1196.857

En el análisis estadístico que consideró únicamente a la población de pacientes con diabetes mellitus, se obtuvo una muestra con edad media de $66,31 \pm 6,44$ años, con un 93.8% de varones. Dentro de este subgrupo, el 6,23% tenían diagnóstico de insuficiencia renal. La Tabla 9 proporciona una descripción general de las características de este subconjunto de pacientes.

En este subgrupo de pacientes diabéticos la correlación entre el CCS y el ICS y entre el i-IMT y el ICS fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$), pero no se demostró correlación entre

el CCS y el i-IMT ($p=0,80$). El nivel medio de ICS fue de $66,31\pm 6,44$ para los pacientes sin antecedentes de cardiopatía isquémica y de $7.783,44\pm 5.074,01$ para los pacientes con dicho diagnóstico ($p=0,006$). La puntuación media de CCS por Agatston fue de $1.071,17\pm 1.085,44$ para los pacientes sin cardiopatía isquemia previa y de $1.640,50\pm 1.178,75$ para los pacientes con cardiopatía isquémica ($p=0,013$). No hubo relación estadísticamente significativa entre el ICS y las complicaciones postoperatorias ($p=0,30$) en pacientes diabéticos. (Tabla 10)

Tabla 9. Características basales de los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus del estudio.

	%	Sin cardiopatía isquémica	Cardiopatía isquémica	P
Edad	66.31 ± 6.44			
Varones	93.8%	68.75	25.00	0.2
Enfermedad renal crónica	0%	6.25	3.22%	<0.001
Hipertensión	81.3%	56.25	25.0	<0.001
Dislipidemia	81.3%	62.5	18.75	0.30
Tabaquismo	87.5%	68.75	18.75	0.02

Tabla 10. Correlación score Agatston coronario (CCS) - calcio arterial iliaco (ICS), grosor intima-media iliaco (i-IMT) - calcio arterial iliaco (ICS) y score Agatston coronario (CCS) - grosor intima-media iliaco (i-IMT) en la población diabética del estudio.

	Pearson Correlación	Sig. (Bilateral)
CCS – ICS	0.34	<0.001
i-IMT – ICS	0.3	<0.001
CCS - i-IMT	-0.022	0.80

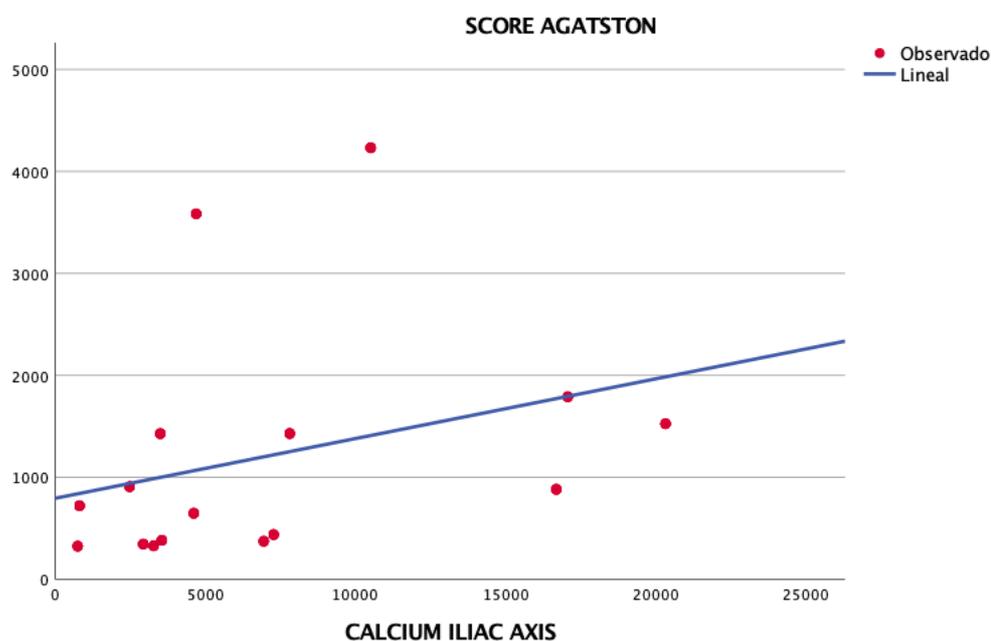


Ilustración 29. Correlación entre el score Agatston coronario y la cuantificación de calcio en el eje arterial iliaco en la población diabética del estudio.

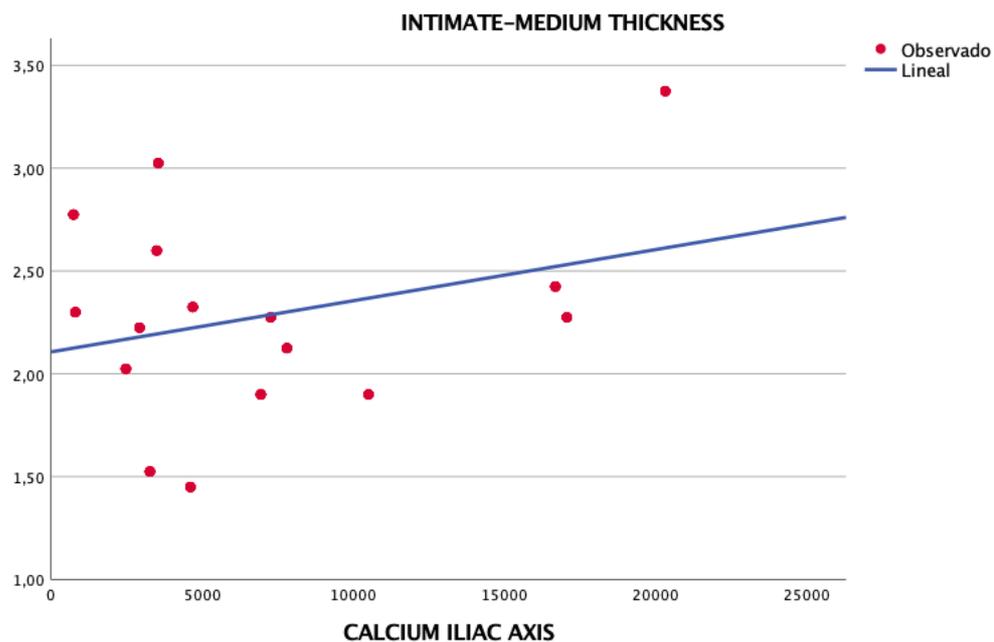


Ilustración 30. Correlación entre el grosor intima-media iliaco medido por Tc y la cuantificación de calcio en el eje arterial iliaco en población diabética del estudio.

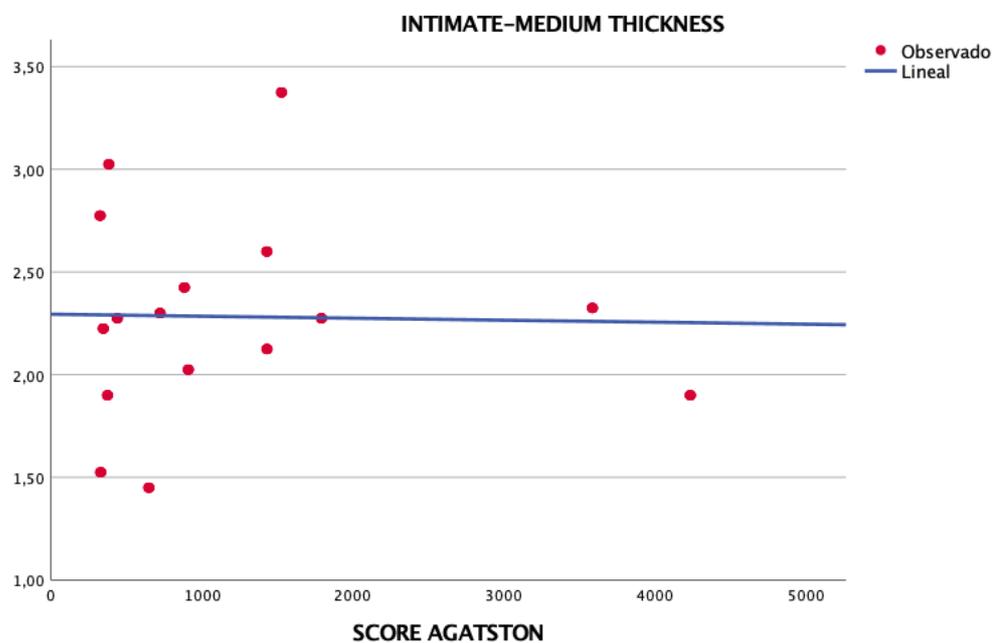


Ilustración 31. Correlación entre el grosor intima-media iliaco pedido por TC y el score Agatston coronario en la población diabética.

En el análisis de regresión lineal múltiple de la población de pacientes con diabetes mellitus, el ICS demostró relación estadísticamente significativa con el CCS por Agatston, el i-IMT, la enfermedad renal crónica, la dislipidemia y el hábito de fumar. La única variable que no mostró diferencia estadísticamente significativa con la cuantificación del calcio de la arteria ilíaca fue la hipertensión arterial, en este subgrupo de pacientes. (Tabla 11)

Tabla 11. Análisis de regresión lineal múltiple de relación entre la cuantificación de calcio arterial iliaco (ICS) y las variables independientes edad, sexo, diabetes, enfermedad renal crónica, hipertensión arterial, dislipemia y tabaquismo, en diabéticos.

	Coeficiente	P	OR	Mínimo	Máximo
Score Agatston (CCS)	1.382	0.000	0.397	1.236	1.558
i-IMT	2010.378	0.000	0.319	1700.430	2320.326
Cardiopatía isquémica	-2115.384	0.000	-0.259	-2977.245	-1253.523
Enfermedad renal crónica	7726.570	0.000	0.452	6022.048	9431.092
Hipertensión arterial	2095.372	0.000	0.292	1576.006	2614.738
Dislipidemia	-229.389	0.639	-0.018	-1231.243	772.464
Tabaquismo	-2886.551	0.010	-0.201	-5102.327	-670.776

En el análisis de comparaciones múltiples mediante el test de Bonferroni no se obtuvo relación estadísticamente significativa entre el i-IMT medido por TC, y la gravedad de la enfermedad arterial periférica.

Tabla 12. Correlación entre el grosor intima-media iliaco medido por TC (i-IMT) y la gravedad de la enfermedad arterial periférica.

(I) ARTERIOAPATHY IN EEII	(J) ARTERIOAPATHY IN EEII	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	-0,5167	0,4802	1,000	-1,936	0,903
	3	-0,6705	0,4095	1,000	-1,881	0,540
	4	0,2000	0,5187	1,000	-1,333	1,733
	5	-0,8250	0,5545	1,000	-2,464	0,814
2	1	0,5167	0,4802	1,000	-0,903	1,936
	3	-0,1538	0,3014	1,000	-1,045	0,737
	4	0,7167	0,4384	1,000	-0,579	2,012
	5	-0,3083	0,4802	1,000	-1,728	1,111
3	1	0,6705	0,4095	1,000	-0,540	1,881
	2	0,1538	0,3014	1,000	-0,737	1,045
	4	0,8705	0,3595	0,197	-0,192	1,933
	5	-0,1545	0,4095	1,000	-1,365	1,056
4	1	-0,2000	0,5187	1,000	-1,733	1,333
	2	-0,7167	0,4384	1,000	-2,012	0,579
	3	-0,8705	0,3595	0,197	-1,933	0,192
	5	-1,0250	0,5187	0,544	-2,558	0,508
5	1	0,8250	0,5545	1,000	-0,814	2,464
	2	0,3083	0,4802	1,000	-1,111	1,728
	3	0,1545	0,4095	1,000	-1,056	1,365
	4	1,0250	0,5187	0,544	-0,508	2,558

En las Ilustraciones 32 y 33 se pueden observar imágenes de TC aortoiliaco realizado a uno de los pacientes del estudio.

En la ilustración 32 se observa imágenes de TC ilíaco y cuantificación de calcio a este nivel siguiendo el método de Agatston.

En la ilustración 33 se observa, la reconstrucción tridimensional que se realiza en los protocolos del estudio mediante TC aortoiliaco realizado a los pacientes con arteriopatía periférica en nuestro centro.

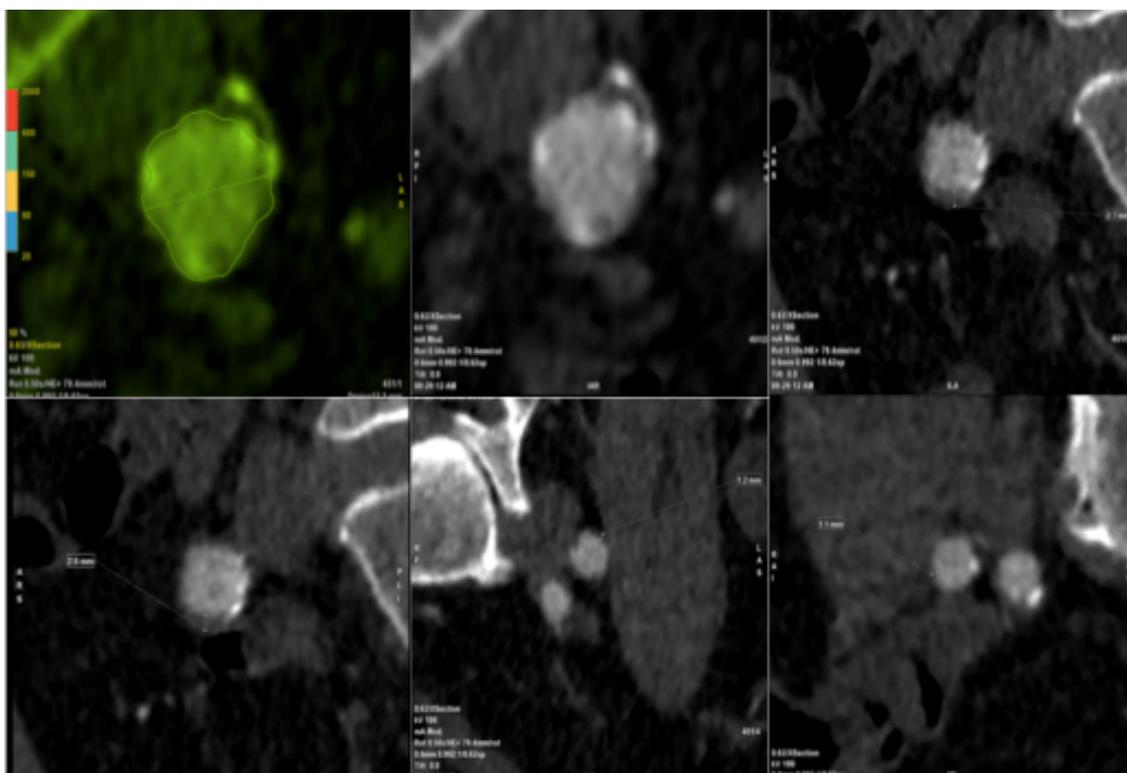


Ilustración 32. Metodología para la cuantificación de calcio en arterias ilíacas en TC ilíaco, mediante método de Agatston. Imagen de uno de los pacientes del estudio.

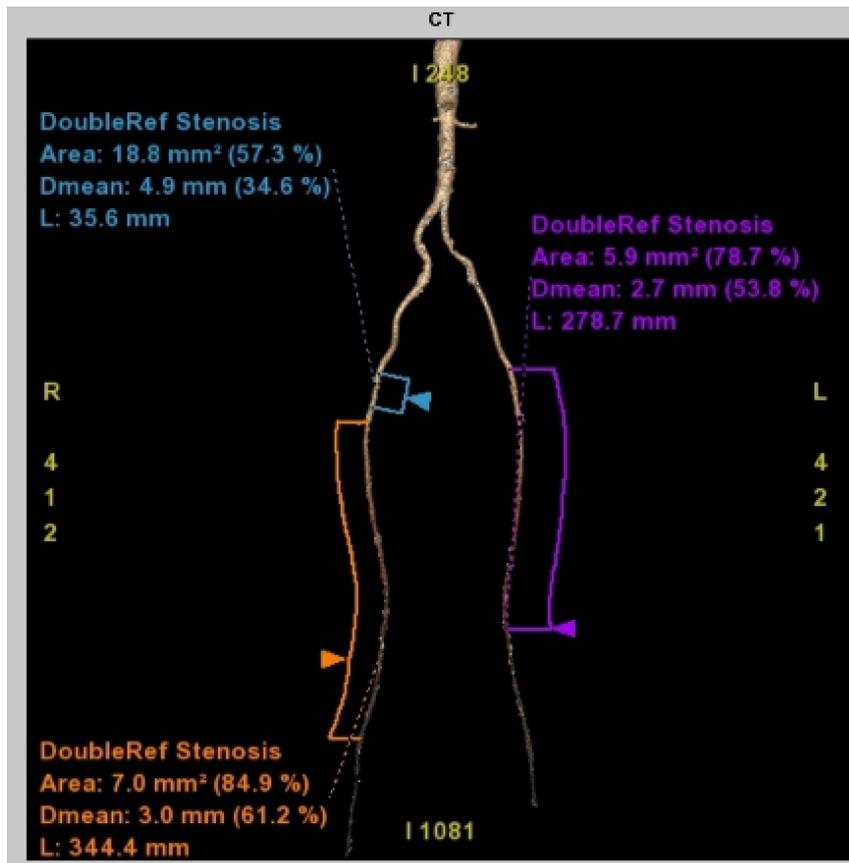


Ilustración 33. Reconstrucción tridimensional del eje iliaco por angiografía por tomografía computarizada (CTA) iliaca.

6.3 Marcadores genéticos asociados a ICS.

En el estudio de asociación genética, se observó correlación estadísticamente significativa entre el ICS y el polimorfismo: rs10902661.

El resto de SNP estudiados (rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625) no tuvieron en nuestro estudio una correlación estadísticamente significativa con la calcificación del eje aortoilíaco.

En las tablas 13, 14 y 15 se muestran el procesamiento de datos del estudio de asociación genética de los 8 SPNs en loci de lípidos estudiados (rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625).

Tabla 13 . Genómica LGC. Enumera las llamadas para cada SPN en cada pozo con una identificación de sujeto. C: controles. P: pacientes o casos.

GRUP	rs10902	rs11164	rs34715	rs93812	rs65699	rs70231	rs11024	rs11062
O	661	798	2	56	79	09	756	625
C1	C:T	T:T	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C2	C:T	A:T	C:T	A:G	G:A	G:G	T:T	A:A
C3	C:C	T:T	C:C	A:G	A:A	G:G	C:T	A:G
C4	C:C	A:T	C:T	G:G	A:A	G:G	C:T	A:A
C5	C:T	A:T	C:T	G:G	A:A	G:G	C:T	A:A
C6	C:T	A:A	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
C7	C:C	A:T	C:T	G:G	A:A	G:G	C:T	A:G
C8	C:C	A:T	C:T	G:G	A:A	A:G	C:T	A:G
C9	C:T	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	C:C	A:G
C10	C:C	T:T	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C11	C:T	A:A	T:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C12	T:T	A:A	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C13	C:T	A:A	C:C	A:G	A:A	G:G	T:T	G:G
C14	C:C	?	C:T	A:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C15	C:C	A:T	C:C	?	A:A	G:G	T:T	A:G
C16	C:C	T:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G

C17	C:T	A:T	C:C	A:G	A:A	G:G	C:T	A:G
C18	C:C	A:A	C:C	A:A	A:A	A:G	C:T	G:G
C19	C:T	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
C20	C:T	T:T	C:T	G:G	A:A	G:G	C:T	A:G
C21	C:C	A:A	T:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C22	C:T	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
C23	C:C	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
C24	C:T	T:T	C:T	G:G	G:A	G:G	T:T	A:A
C25	C:T	A:T	C:T	G:G	G:A	G:G	T:T	A:A
P1	C:C	T:T	C:C	G:G	A:A	G:G	C:T	G:G
P2	C:C	A:T	C:C	G:G	G:A	G:G	T:T	A:G
P3	C:C	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
P4	C:C	T:T	T:T	G:G	A:A	A:G	T:T	A:A
P5	C:C	A:T	C:T	A:G	A:A	G:G	T:T	G:G
P6	C:C	A:T	T:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P7	C:T	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	C:T	A:A
P8	C:C	A:T	C:C	G:G	G:A	G:G	T:T	A:A
P9	DUPE	T:T	C:T	G:G	A:A	G:G	DUPE	DUPE
P10	C:C	T:T	C:C	G:G	A:A	G:G	C:T	A:G
P11	C:T	T:T	T:T	G:G	G:A	G:G	C:C	A:G

P12	C:T	A:T	C:C	G:G	A:A	A:G	T:T	A:A
P13	C:C	T:T	C:C	A:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P14	C:C	A:T	C:C	G:G	A:A	A:G	C:T	A:G
P15	C:C	A:T	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	G:G
P16	C:C	A:T	C:C	A:G	A:A	A:G	T:T	A:G
P17	C:C	A:A	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P18	C:C	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P19	C:C	A:T	C:T	A:G	A:A	G:G	T:T	G:G
P20	C:C	A:T	C:T	G:G	A:A	G:G	C:T	A:G
P21	C:C	?	C:T	G:G	A:A	G:G	T:T	A:G
P22	C:C	A:T	C:C	A:G	A:A	G:G	T:T	A:G
P23	T:T	T:T	C:C	G:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P24	C:T	T:T	C:C	A:G	A:A	G:G	T:T	A:A
P25	C:C	A:T	C:C	G:G	A:A	G:G	C:C	A:G

Tabla 14. Genotipo y alelos de casos y controles. C: controles. P: pacientes o casos.

GENOTIPO								
C	C:C=11	T:T=6	C:C=11	G:G=18	A:A=22	G:G=23	T:T=16	A:A=8
	C:T=13	T:A=12	C:T=12	A:G=5	G:A=3	A:G=2	C:T=8	A:G=15
	T:T=1	A:A=6	T:T=2	A:A=1	G:G=0	A:A=0	C:C=1	G:G=2
P	C:C=19	T:T=8	C:C=15	G:G=19	A:A=22	G:G=21	T:T=17	A:A=10
	C:T=4	T:A=14	C:T=7	A:G=6	G:A=3	A:G=4	C:T=5	A:G=10
	T:T=1	A:A=1	T:T=3	A:A=0	G:G=0	A:A=0	C:C=2	G:G=4
ALELOS								
C	C=35							
	T=25							
P	C=42							
	T=6							

Tabla 15. Resumen de procesamiento de estudio genético (SPNs) de casos y controles.

	Casos					
	Validos		Missing		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
GRUPO rs10902661	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs11164798	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs347152	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs9381256	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs6569979	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs7023109	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs11024756	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%
GRUPO rs11062625	50	100,0%	0	0,0%	50	100,0%

En las Tablas de la 16 a la 23, se pueden observar las tablas cruzadas casos-control de cada uno de los 8 SNPs estudiados.

Tabla 16. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs10902661.

		rs10902661				Total
		C:C	C:T	DUPE	T:T	
GRUPO	0	11	13	0	1	25
	CASO	19	4	1	1	25
Total		30	17	1	2	50

Tabla 17. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11164798.

		rs11164798				Total
		?	A:A	A:T	T:T	
GRUPO	0	1	6	12	6	25
	CASO	1	1	15	8	25
Total		2	7	27	14	50

Tabla 18. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs347152.

		rs347152			Total
		C:C	C:T	T:T	
GRUPO	0	11	12	2	25
	CASO	15	7	3	25
Total		26	19	5	50

Tabla 19. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs9381256.

		rs9381256				Total
		?	A:A	A:G	G:G	
GRUPO	0	1	1	5	18	25
	CASO	0	0	6	19	25
Total		1	1	11	37	50

Tabla 20. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs6569979.

		rs6569979		Total
		A:A	G:A	
GRUPO	0	22	3	25
	CASO	22	3	25
Total		44	6	50

Tabla 21. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs7023109.

		rs7023109		Total
		A:G	G:G	
GRUPO	0	2	23	25
	CASO	4	21	25
Total		6	44	50

Tabla 22. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11024756.

		rs11024756				Total
		C:C	C:T	DUPE	T:T	
GRUPO	0	1	8	0	16	25
	CASO	2	5	1	17	25
Total		3	13	1	33	50

Tabla 23. Tabla cruzada casos-control para el polimorfismo rs11062625.

		rs11062625				Total
		A:A	A:G	DUPE	G:G	
GRUPO	0	8	15	0	2	25
	CASO	10	10	1	4	25
Total		18	25	1	6	50

En la Tabla 24, se observa la correlación entre el ICS y los diferentes SNPs estudiados: podemos ver que el único que presenta relación significativa ($p < 0.05$) es rs 10902661.

Tabla 24. Correlación entre los polimorfismos de un solo nucleótido estudiados (SPNs) y la cuantificación de calcio iliaco (ICS) en estudio casos control.

	Chi-cuadrado de Pearson	Significación (Bilateral)
rs10902661	7.898	p 0.048 ($p < 0.05$)
rs11164798	4.190	p 0.242
rs347152	2.131	p 0.345
rs9381256	2.118	p 0.548
rs6569979	0.000	p 1.00
rs7023109	0.758	p 0.384
rs11024756	2.056	p 0.561
rs11062625	2.889	p 0.409

7. DISCUSIÓN.

7. DISCUSIÓN.

7.1 Principales hallazgos y puesta en contexto.

Nuestro trabajo es el primero en el campo de la imagen cardiovascular que evalúa el ICS como marcador de carga aterosclerótica total y como herramienta en la evaluación de la severidad de la EAP. También es el primero en demostrar una correlación positiva entre el CCS y el ICS.

Los resultados de este estudio arrojan luz sobre la relación entre las puntuaciones de calcio de la arteria coronaria y la ilíaca, cuantificadas por el índice Agatston, y sus implicaciones para la evaluación del riesgo cardiovascular. Estos hallazgos tienen una importancia sustancial en el ámbito de la medicina preventiva y contribuyen al creciente conjunto de conocimientos sobre la aterosclerosis y sus implicaciones sistémicas.

Los coeficientes de correlación observados entre el ICS y el CCS subrayan la posible asociación entre la calcificación en estos distintos territorios vasculares. Esto sugiere que los pacientes con mayor calcificación de las arterias coronarias tienen más probabilidades de presentar niveles elevados de calcificación en las arterias ilíacas. Esta correlación podría atribuirse potencialmente a mecanismos subyacentes compartidos que promueven la calcificación vascular, como la inflamación, el estrés oxidativo y la disfunción endotelial.

Este hallazgo abre vías para mejorar la evaluación del riesgo cardiovascular. Si se puede confirmar una correlación positiva entre estos dos factores mediante estudios longitudinales, se podría introducir un enfoque novedoso para predecir las complicaciones coronarias en pacientes con EAP. Las mediciones del calcio de la arteria ilíaca, accesibles mediante técnicas de imagen no invasivas, podrían servir como una herramienta predictiva adicional para identificar a los pacientes con riesgo de desarrollar complicaciones coronarias.

Esta innovación podría permitir a los médicos iniciar intervenciones tempranas y estrategias de tratamiento personalizadas, mitigando potencialmente los eventos cardiovasculares adversos.

La calcificación arterial es un proceso complejo impulsado por vías celulares y moleculares multifacéticas. La aterosclerosis, la base subyacente de la mayoría de las enfermedades cardiovasculares, implica inflamación, estrés oxidativo, disfunción endotelial y activación de las células del músculo liso.

Estos mecanismos culminan con el depósito de calcio dentro de las paredes arteriales. Dada la naturaleza sistémica de la aterosclerosis, es concebible que estos mecanismos no se limiten únicamente a las arterias coronarias. La correlación observada entre las puntuaciones de calcio de la arteria coronaria y la íliaca sugiere una posible superposición en las vías fisiopatológicas que impulsan la calcificación. Esto abre vías para investigar si las intervenciones dirigidas a estas vías compartidas podrían afectar simultáneamente la salud arterial coronaria y periférica.

Los hallazgos también subrayan la importancia de una estratificación integral del riesgo en el manejo de las enfermedades cardiovasculares. La inclusión de puntuaciones de ICS en los modelos de evaluación de riesgos existentes podría perfeccionar la predicción de riesgos al ofrecer información sobre la salud vascular más allá de las arterias coronarias. Un enfoque más holístico para la estratificación del riesgo que considere la calcificación de la arteria coronaria y la íliaca puede proporcionar a los médicos una comprensión más precisa de los perfiles de riesgo cardiovascular general de los pacientes. Esto, a su vez, podría influir en la toma de decisiones clínicas, permitiendo intervenciones y planes de tratamiento personalizados.

Este estudio además es el primero en demostrar la relación entre el ICS y el i-IMT medidos ambos mediante TC, ya que el grosor íntima media y el score de calcio mediante el método de Agatston, son marcadores de aterosclerosis validados en otros territorios, que ahora, se evalúan en las arterias ilíacas, y tiene una correlación entre sí, y con otros factores de riesgo cardiovascular.

Existen estudios previos que han evaluado la utilidad de marcadores mediante estudio de placa por imagen con análisis del c-IMT (100,101,102,109,110,113), y de CCS (110-113). Siendo

este es el primer estudio que informa sobre la asociación entre dos marcadores validados de carga aterosclerótica (puntuación de calcio y grosor intima-media) determinada al mismo nivel (arterias ilíacas) y que utiliza la misma técnica (CTA).

Por otro lado en este trabajo se ha demostrado relación significativa entre valores elevados de ICS y factores de riesgo cardiovascular clásicos.

Los análisis de subgrupos de pacientes con diabetes mellitus aclaran el potencial de las puntuaciones de calcio de la arteria ilíaca para refinar la evaluación de riesgos para individuos con factores de riesgo específicos. Estos análisis revelaron tendencias similares a las observadas en la población en general, lo que refuerza la utilidad potencial de la calcificación de la arteria ilíaca como herramienta predictiva en el subgrupo de pacientes diabéticos de alto riesgo. Esto respalda la idea de que las puntuaciones de calcio en la arteria ilíaca podrían mejorar la evaluación de riesgos en diversos perfiles de pacientes, contribuyendo a estrategias de atención médica más personalizadas y efectivas.

El presente trabajo es el primero en estudiar la relación entre el i-IMT medido por CTA, y la severidad de la enfermedad arterial periférica.

Otro hallazgo relevante de la investigación, es la demostración de que existe correlación estadísticamente significativa entre la aterosclerosis demostrada por calcificación en arterias ilíacas, y un marcador genético: un SPN asociado al metabolismo lipídico (rs10902661) relacionado en estudios previos con c-IMT. Esto avala la relación clara existente entre la genética y el proceso de aterosclerosis, así como con la calcificación vascular. Proporcionando una nueva herramienta para la detección de individuos con mayor riesgo cardiovascular, que además se asocia a otros marcadores de imagen innovadores como el calcio en arterias ilíacas (49).

7.2 Comparación de los resultados con la literatura.

7.2.1 Trabajos que evalúan técnicas marcadores por imagen de riesgo cardiovascular.

Revisando la literatura en cuanto a imagen cardiovascular y los últimos avances al respecto se ha objetivado que en los últimos años ha aumentado mucho el interés en el estudio marcadores derivados de la imagen asociados con la aterosclerosis, que nos van a permitir predecir el riesgo de nuestros pacientes de forma individual y optimizar su tratamiento.

Se han estudiado diferentes modalidades de estudio de la placa por imagen como modificadores del riesgo cardiovascular individual. Se ha estudiado ampliamente el c-IMT y más recientemente el CCS cuantificado mediante el método de Agatston. También se ha estudiado la relación entre la calcificación arterial en distintos territorios vasculares con morbimortalidad global y cardiovascular.

Se ha demostrado ampliamente que si añadimos la valoración directa de la carga de placa a los factores de riesgo tradicionales mejora la estimación del riesgo cardiovascular (97,98, 99).

a) Trabajos que evalúan el c-IMT.

El c-IMT ha sido estudiado exhaustivamente como un marcador de aterosclerosis global y estudios amplios validaron su papel como un marcador predictor sustituto de la aterosclerosis (100, 101,102,109,110,113).

La relación entre c-IMT en la predicción de eventos cardiovasculares ha sido demostrado por varios estudios. Se ha demostrado que la adición de medidas de ecografía carotídea a los factores de riesgo convencionales puede mejorar significativamente la estratificación del riesgo

de ECV (110). Además el aumento en la carga de la placa carotídea y el espesor máximo de esta se asociaron con aumento del riesgo de eventos cardiovasculares mayores futuros.

b) Trabajos que evalúan el CCS como marcador de aterosclerosis.

El desarrollo del índice de Agatston para la cuantificación de la calcificación de las arterias coronarias transformó la evaluación del riesgo cardiovascular. En diversos estudios se ha demostrado que la cantidad de calcio en los vasos coronarios, expresada por el CCS en la CTA, está asociada con la presencia y la gravedad de las lesiones ateroscleróticas coronarias, independientemente de los factores de riesgo tradicionales (103, 104), demostrando su valor diagnóstico y pronóstico.

Hay estudios que demuestran que un CCS de 0 se asocia a muy bajo riesgo de eventos coronarios y a medida que aumenta el CCS es un continuo de aumento del riesgo cardiovascular.

Otros trabajos más recientes demostraron que un CCS elevado se asoció de forma significativa con mayor severidad y complejidad anatómica de la enfermedad coronaria y con mayor mortalidad (108). En pacientes con enfermedad coronaria multivascular (105, 106, 107), se asoció el CCS con mayor puntuación en el score de Syntax que evalúa la complejidad anatómica de cara a una eventual revascularización.

Se ha demostrado en estudios de detección de calcificación vascular en múltiples territorios que la presencia de calcio en las arterias coronarias se relaciona de forma significativa con mayor mortalidad cardiovascular (114).

Trabajos científicos recientes, como el estudio PESA (3) y el ensayo VIVA (101), han demostrado el valor de la detección vascular múltiple, pudiendo detectar aterosclerosis

subclínica en un grado significativamente mayor que las intervenciones de detección vascular única.

El futuro para la valoración del riesgo cardiovascular y el pronóstico de estos pacientes es el estudio conjunto de múltiples territorios vasculares y la multimodalidad con distintas técnicas de imagen vascular.

Varios estudios han demostrado una buena correlación entre el CCS y el c-IMT, de hecho, el c-IMT muestra una sensibilidad del 75% y una especificidad del 60% para predecir un CCS alto en adultos asintomáticos (110-112).

No hay estudios hasta la fecha, según el conocimiento de los autores, que evalúen la relación del CCS con la calcificación de las arterias ilíacas, el grosor de la media-íntima en los ejes arteriales ilíacos y su correlación con la clínica y la severidad de la enfermedad aterosclerótica de las extremidades inferiores.

Los estudios previos se centraron en la correlación entre la cantidad de calcio por TC en arterias coronarias y en el grosor por ultrasonido de la íntima-media carotídea (eco-doppler vascular) utilizando, por tanto diferentes técnicas de imagen y diferentes territorios para la estimación de riesgo cardiovascular.

c) Trabajos que evalúan la cuantificación del calcio ilíaco.

Se ha revisado la evidencia científica en cuanto al estudio de la calcificación en las arterias ilíacas y hemos encontrado estudios (114) que relacionan la presencia de calcio en las arterias ilíacas con mortalidad total y correlación entre CCS y mortalidad cardiovascular.

Otros estudios han demostrado que la calcificación de las arterias ilíacas externas se asoció significativamente con la mortalidad por todas las causas y por ECV (116).

El ICS podría representar un nueva herramienta de detección efectiva para la aterosclerosis: Un ICS alto puede indicar riesgo de EAP.

Otros estudios compararon la calcificación arterial en vasos principales con el riesgo de mortalidad por todas las causas y por causa cardiovascular (117).

No se han encontrado trabajos que evalúen la relación entre la calcificación a nivel de las arterias ilíacas y la severidad o complejidad anatómica de la EAP.

7.2.2 Trabajos que evalúan marcadores genéticos de riesgo cardiovascular.

Revisando la literatura al respecto, desde la publicación de trabajos de asociación del genoma completo que han permitido identificar polimorfismos de un único nucleótido (SNP) que asocian mayor riesgo cardiovascular, ha ido aumentando el interés en el tema.

Se ha demostrado consistentemente que la adición de marcadores genéticos aumenta significativamente las capacidades predictivas de riesgo cardiovascular.

Se han estudiado polimorfismos genéticos en loci relacionados con distintas vías etiopatogénicas relacionadas con la aterosclerosis. Se han estudiado polimorfismos asociados a vía de los lípidos, aterotrombosis, asociadas a determinados fenotipos de respuestas inflamatoria, a fenotipos de células musculares y reguladores del tono vascular, así como señalizadores de la vía del óxido nítrico.

El riesgo asociado a cada uno de estos polimorfismos parece de pequeña cuantía, pero en determinados individuos, en que se acumulen combinaciones de estos polimorfismos, pueden aumentar mucho el riesgo global y favorecer la aparición de eventos de forma muy precoz.

Estudios recientes apuntan a que el estudio genético mejora la predicción del riesgo cardiovascular individual, independientemente de los antecedentes familiares.

En muchos de estos estudios se han obtenido nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de estos pacientes, así como para la evaluación de la respuesta terapéutica. Además se ha demostrado que cambios en el estilo de vida pueden llegar a corregir una carga genética adversa (120).

a) Trabajos que evalúan arcadores genéticos de aterosclerosis.

Marcadores genéticos asociados a lípidos.

Recientes estudios han identificado SNP novedosos en loci relacionados con lípidos que muestran asociaciones independientes, de moderadas a fuertes, con cIMT elevado. Además demostraron consistentemente que la adición de marcadores genéticos aumentó significativamente las capacidades predictivas.

Marcadores genéticos asociados a fenotipo de células musculares lisas.

Se han observado numerosas variantes fenotípicas de células musculares lisas vasculares. Estudios recientes sugieren que estos fenotipos son independientes entre sí y están regulados por distintos loci genéticos. Esto contrasta con estudios que demuestran que los cambios en el entorno local, como la presencia de estímulos proinflamatorios, cambios en la composición de la matriz extracelular y distintos patrones de tensión mecánica, inducen cambios coordinados en la migración y proliferación de las VSMC. También se han estudiado las interacciones gen-

ambiente en la respuesta proliferativa de las células musculares lisas vasculares a la estimulación con citocinas.

b) Marcadores genéticos relacionados con la calcificación arterial.

Se ha demostrado en estudios recientes que la prevalencia y cantidad de calcificación coronaria está significativamente relacionada en al menos un 40% por factores genéticos. En el estudio Framingham se estimaba que la heredabilidad de la calcificación de la aorta abdominal ajustado por los factores de riesgo fue del 49%.

Estos hallazgos son consistentes con la interpretación de que al menos algunos de estos factores genéticos son determinantes independientes de aterosclerosis.

Los estudios que han examinado el papel de genes específicos en la calcificación arterial en humanos son limitados. Estos genes muchas veces también han sido involucrados en el proceso de la aterosclerosis como: El enzima convertidor de angiotensina (ACE en ingles), y el eje renina-angiotensina-aldosterona, Apo-E, E-selectina, Metaloproteinasa 3 de matriz (MMP-3), Matrix Gla Protein (MGP), CC receptor de quimiocina 2 (CCR2), Receptor de estrógenos alfa ($ER\alpha$), Osteoprotegerina proteica (OPG), Ectonucleotido pirofosfatasa fosfodiesterasa 1 (ENPP1).

También se han estudiado polimorfismos genéticos asociados a la calcificación de la pared aortica. La calcificación aortica es un importante predictor independiente de eventos cardiovasculares. Un aumento de la expresión de HDAC9 en las células musculares lisas vasculares humanas de la aorta, promovía la calcificación y reducía la contractilidad de las mismas. Mientras que una inhibición de su expresión producía el efecto contrario. Demuestra que HDAC9 promueve un fenotipo de células de músculo liso vascular osteogénico, aumentando la calcificación y reduciendo la contractilidad.

c) Trabajos que evalúan la relación de marcadores genéticos y pruebas de imagen de aterosclerosis.

Hay interés creciente actualmente en la relación entre estos marcadores genéticos y la pruebas de imagen de placa aterosclerótica.

Se han realizado estudios sobre la asociación entre marcadores genéticos asociados a lípidos y el grosor de la íntima media carotídeo. En este estudio de asociación genética los sujetos fueron seleccionados entre los participantes del estudio Mitochondria-Aging in Northern Taiwan (MAGNET). El estudio MAGNET reclutó a 1.607 residentes, de entre 40 y 74 años del norte de Taiwán durante septiembre de 2010 y mayo de 2012. Se obtuvieron y midieron imágenes del grosor íntima-media de la arteria carótida común. De estos se seleccionaron al azar 285 sujetos que tenían un GIMc medio $\geq 0,70$ mm, el percentil 75 de la distribución del GIMc medio, como casos. Los controles fueron 466 sujetos que tenían una media de cIMT $< 0,70$ mm. Todos los casos y controles fueron genotipados por el Centro Nacional de Medicina Genómica. Se utilizaron múltiples procedimientos para seleccionar SNPs en los 174 loci relacionados con lípidos y evaluaron sus relaciones con cIMT. Las relaciones con cIMT para todos los SNP elegibles se evaluaron mediante múltiples modelos de efectos genotípicos. Se obtuvieron ocho SNPs candidatos con asociaciones significativamente independientes con cIMT: rs10902661, rs11164798, rs347152, rs9381256, rs6569979, rs7023109, rs11024756 y rs11062625. Las estadísticas de la prueba mostraron que la adición de 8 marcadores genéticos al modelo clínico mejoró significativamente la discriminación (AUROC: 0,761 \rightarrow 0,835; $\chi^2 = 31,9$; valor p = 1,64 $\times 10^{-8}$). Fueron identificados 8 SNP novedosos en loci relacionados con lípidos que muestran asociaciones independientes de moderadas a fuertes con cIMT elevado.

También se han demostrado asociaciones entre polimorfismos genéticos y mayor CCS.

7.2.3 Características diferenciales de nuestro trabajo.

Nuestro trabajo presenta algunas particularidades con respecto a la mayoría de trabajos presentados que evalúan técnicas de imagen y marcadores genéticos como nuevas herramientas de evaluación de riesgo cardiovascular. Creemos que estas diferencias aumentan el valor y la utilidad de los resultados presentados. Estas particularidades son las siguientes:

- Evalúa un parámetro de imagen de enfermedad arterial periférica: el ICS como marcador de carga aterosclerótica total y como herramienta en la evaluación de la severidad de la enfermedad arterial periférica.
- Correlaciona un marcador de EAP (ICS) con un marcador de imagen de EAC (CCS).
- Correlaciona un marcador de EAP (ICS) con mayor CCS a nivel del TCI, y no de otras arterias coronarias, como posible factor pronóstico. También correlaciona el ICS con antecedentes de cardiopatía isquémica.
- Estudia dos marcadores de imagen de aterosclerosis (ICS e i-IMT) con una misma técnica de imagen (TC) que además se realiza de forma rutinaria en pacientes con EAP.
- La información recogida es homogénea y de alta calidad: se trata de pacientes del servicio de Angiología y Cirugía Vascular del Hospital Clínico de Valladolid, centro terciario de referencia en el diagnóstico, la atención y el manejo de los pacientes con EAP. La técnica de imagen utilizada (TC aortoiliaco y TC cardiaco) ha sido realizada por servicio de Radiología del Hospital Clínico de Valladolid con amplia experiencia en

este tipo de pacientes y por cardiólogos especializados en imagen cardiovascular y en la realización de la cuantificación de calcio coronario y TC cardiaco.

- Se ha estudiado la relación entre un marcador de imagen de EAP (ICS) y marcadores genéticos (polimorfismos asociados a lípidos relacionado mayor c-IMT) y se ha obtenido una correlación positiva estadísticamente significativa: un SPN asociado al metabolismo lipídico (rs10902661).

7.3 Consecuencias para la práctica clínica.

Marcadores innovadores de aterosclerosis por imagen.

El ICS se puede evaluar fácilmente mediante CTA, una técnica que, según las directrices europeas, tiene una indicación de clase I en pacientes con EAP sintomática (5).

La correlación positiva hallada en este trabajo entre el ICS y el CCS, podría llevar a la detección precoz de pacientes en riesgo de complicaciones coronarias, basado en la medida del calcio en arterias ilíacas. Este nuevo dato podría revolucionar la evaluación de riesgo cardiovascular de los pacientes con EAP.

La inclusión del cálculo del ICS mediante CTA podría proporcionar a los a los médicos una nueva herramienta predictiva. Al identificar pacientes con mayor riesgo de eventos coronarios, podría hacer posible intervenciones proactivas y planes de tratamiento más personalizado. De este modo se podría reducir potencialmente la incidencia de eventos cardiovasculares mayores. Esta herramienta adicional sería especialmente útil en pacientes, a los que se va a realizar una intervención de cirugía vascular, pudiendo diferenciar aquellos con mayor riesgo de eventos coronarios en el periodo perioperatorio.

Además el vínculo demostrado entre ICS y el i-IMT, dos marcadores derivados de la imagen del proceso aterosclerótico a nivel de las arterias ilíacas, ambos mediante TC, podría servir para su uso como marcadores sustitutos de la aterosclerosis a nivel de las arterias periféricas, utilizando en ambos la misma técnica de imagen. Proporcionando información adicional sobre la carga y la severidad de la enfermedad aterosclerótica.

Dada la alta incidencia de EAP en la población con aterosclerosis en otros territorios, estos marcadores innovadores de carga aterosclerótica, permiten una detección más completa, además del clásico índice tobillo-brazo. Además estos marcadores de imagen podrían predecir no solo la presencia de EAP, sino también su gravedad o complejidad. El ICS puede representar un buen candidato para convertirse en una herramienta de cribado efectiva para la aterosclerosis. Un ICS alto puede indicar riesgo de EAP y podría ser seguido por un CTA de miembros inferiores.

Todo esto puede ayudar a desarrollar nuevos modelos de predicción para una evaluación compleja de la carga aterosclerótica global y su riesgo asociado, modelos que incluirían la evaluación de la carga de calcio en diferentes ubicaciones en el lecho vascular, incluidas las arterias ilíacas.

Dada la asociación entre EAP y EAC, un ICS alto debería poder incentivar a realizar un CTA coronario para la detección de enfermedad coronaria significativa, resultante de la progresión global de la aterosclerosis.

Nuevos marcadores genéticos de aterosclerosis y calcificación vascular.

La correlación demostrada entre el SPN asociado a lípidos rs10902661, y el ICS, puede ser muy útil como nuevo marcador genético de aterosclerosis.

Esta correlación puede tener utilidad, para detectar a pacientes portadores de SPN rs10902661, con mayor riesgo de calcificación iliaca. Esto puede condicionar la actitud médica:

- Ser más agresivos en las recomendaciones y tratamiento de estos pacientes, ya que ha demostrado que cambios en el estilo de vida pueden llegar a disminuir los eventos en pacientes con carga genética adversa (120).
- Realización de más pruebas de imagen para cribado de enfermedad cardiovascular.
- Realizar estudio de otros polimorfismos que asociados a este pueden conferir al individuo mayor riesgo cardiovascular global.
- Motivar a estos sujetos a cumplir estos objetivos de prevención y mayor adherencia terapéutica.
- Cribado de posibles familiares con riesgo cardiovascular aumentado.
- Generar modelos de predicción de aterosclerosis basado en este y otros polimorfismos genéticos, asociados a variables clínicas, para aumentar la capacidad predictiva y en última instancia reducir eventos y morbimortalidad cardiovascular.

7.4 Futuras líneas de investigación.

Imagen cardiovascular.

Las direcciones de investigación futuras deben abarcar estudios prospectivos para dilucidar la relación temporal entre la calcificación de las arterias coronaria e ilíaca y su impacto en los resultados cardiovasculares. Además, las investigaciones sobre los mecanismos subyacentes a la correlación observada podrían ofrecer información sobre posibles objetivos terapéuticos para prevenir o ralentizar la progresión de la calcificación vascular.

Serían muy interesantes estudios prospectivos que pudieran confirmar que valores elevados de calcio ilíaco (ICS) podrían ser indicativos de una carga aterosclerótica global en diferentes

niveles, incluidas las arterias coronarias. Esto justifica hipotetizar que nuevos marcadores de aterosclerosis como el i-IMT e ICS también pueden ser útiles como predictores de disfunción miocárdica secundaria a aterosclerosis global. Esta potencial relación entre el ICS y el deterioro de la FEVI podría deberse a la coexistencia de una enfermedad coronaria grave en pacientes con calcificaciones ilíacas graves, como resultado de un proceso aterosclerótico generalizado. Dado que CCS, e c-IMT se han relacionado con deterioro de la FEVI , y datos de disincronía (113), y los hallazgos del estudio de Akan et al. en que se relaciona mayor complejidad y severidad de la EAC con mayor complejidad y severidad de la EAP.

También serían interesantes estudios prospectivos que relacionar el ICS con mayor calcificación a nivel de las diferentes arterias coronarias y si esto modifica la función ventricular izquierda, y la gravedad de los eventos coronarios.

Genética y riesgo cardiovascular.

Queda mucho por estudiar sobre las implicaciones de la genética en el mundo de la medicina clínica, y en particular en la aterosclerosis, y en la calcificación vascular.

Serían interesantes futuros estudios sobre los mecanismos moleculares y genéticos que afectan la calcificación de la placa y en qué se diferencian de los que causan la aterosclerosis. Profundizar en el estudio de los polimorfismos genéticos y su implicación en la variabilidad de expresión fenotípica de patologías que no pueden explicarse únicamente por factores de riesgo. Como las diferencias genéticas pueden afectar a la respuesta a determinados tratamientos.

El estudio de todos estos determinantes genéticos mejorará la comprensión, el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares.

Relación entre imagen y genética en la evaluación del riesgo cardiovascular individual.

Sería interesante profundizar en la investigación sobre la relación entre marcadores de placa aterosclerótica por imagen y los marcadores genéticos asociados. Estudios futuros podrían estudiar la relación de polimorfismos genéticos asociados a calcificación vascular con pruebas de estudio de la placa por imagen para poder indagar en los mecanismos fisiopatológicos de la aterosclerosis y la calcificación vascular, así como la importancia de la predisposición genética en este proceso. Esto sería interesante en los pacientes con genética de riesgo para aterosclerosis, en los que aparecen diversas combinaciones de polimorfismos que se asocian a fenotipos de riesgo cardiovasculares.

7.5 Limitaciones de la investigación.

A pesar de los valiosos conocimientos proporcionados por este estudio, se deben reconocer ciertas limitaciones.

Primero, el diseño transversal limita inherentemente el establecimiento de causalidad y requiere más investigaciones longitudinales. Además, el tamaño de la muestra del estudio, si bien es adecuado para los análisis realizados, podría restringir la generalización de los hallazgos a poblaciones más amplias.

Segundo, el estudio planteado es observacional, sin datos de seguimiento. Sería interesante prolongar el estudio presente para realizar seguimiento de los pacientes y analizar la existencia de eventos cardiovasculares futuros, para establecer un valor de corte preciso de ICS que pueda distinguir entre pacientes de alto y bajo riesgo, similar a CCS.

En tercer lugar, se debe tener en cuenta que los valores de ICS podrían diferir en gran medida dependiendo de la longitud del segmento ilíaco utilizado para las mediciones, la selección de

arterias ilíacas (comunes, internas, externas). Además, hasta el momento no hay datos publicados que indiquen qué segmentos deben usarse para realizar las mediciones.

Y por último, debemos mencionar que todas las mediciones en nuestro estudio se realizarán con la tecnología CTA, mientras que la medición ultrasonográfica de i-IMT también está disponible con un costo significativamente menor y sin radiación. Sin embargo, preferimos realizar la misma técnica de examen para ambas aplicaciones, a fin de proporcionar resultados más precisos.

8. CONCLUSIONES.

8. CONCLUSIONES.

1. Existe correlación positiva entre las puntuaciones de calcio arterial coronario (CCS) e ilíaco (ICS), medidos mediante de TC y cuantificadas a través del índice de Agatston.
2. Esta correlación sugiere mecanismos subyacentes compartidos de calcificación vascular en distintos territorios.
3. El ICS se asocia de forma significativa al grosor íntima-media iliaco (i-IMT) medido por TC.
4. Los pacientes con factores de riesgo tradicionales como la diabetes o la enfermedad renal, o con antecedentes de cardiopatía isquémica tiene puntuaciones más altas de ICS.
5. El subgrupo de pacientes diabéticos tiene resultados similares a los de la población general del estudio.
6. Existe una asociación estadísticamente significativa entre una mayor calcificación arterial iliaca (ICS) y el polimorfismo genético asociado a lípidos rs10902661, que también se correlaciona con mayor grosor intima-media carotideo (c-IMT).
7. El ICS constituye un nuevo marcador de calcificación coronaria y de carga aterosclerótica total en pacientes con EAP.

9. ANEXOS.

9. ANEXOS.**Anexo I. Clasificación clínica de enfermedad arterial periférica de Fontaine (5).**

Grado I	Asintomático. Detectable por índice tobillo-brazo < 0,9
Grado IIa	Claudicación intermitente no limitante para el modo de vida del paciente.
Grado IIb	Claudicación intermitente limitante para el paciente
Grado III	Dolor o parestesias en reposo
Grado IV	Gangrena establecida. Lesiones tróficas
Grado III / IV	Isquemia crítica. Amenaza de pérdida de extremidad.

Anexo II. Clasificación de Rutherford (5).

Grado 0	Categoría 0	Asintomático
Grado I	Categoría 1	Claudicación leve
Grado I	Categoría 2	Claudicación moderada
Grado I	Categoría 3	Claudicación grave
Grado II	Categoría 4	Dolor isquémico en reposo
Grado III	Categoría 5	Pérdida tisular menor
Grado III	Categoría 6	Pérdida tisular mayor

Anexo III. Clasificación TASC II arterias iliacas (9).

Lesiones A:

Estenosis unilateral o bilateral de la CIA.

Estenosis unilateral o bilateral mayor o igual a 3 cm en la EIA.

Lesiones B:

Estenosis mayor o igual a 3 cm de la aorta infrarrenal.

Oclusión iliaca unilateral.

Estenosis única o múltiple 3-10 cm que afecta EIA, pero no a CFA.

Oclusión unilateral de la EIA que no afecta a la CFA ni a la hipogástrica.

Lesiones C:

Oclusión de la CIA bilateral.

Estenosis bilateral de la EIA 3-10 cm que afecta a EIA pero no CFA.

Estenosis unilateral de la EIA que engloba la CFA o hipogástrica.

Oclusión unilateral de la EIA que engloba la CFA o hipogástrica.

Oclusión unilateral severamente calcificada de la EIA.

Lesiones D:

Oclusión de la aorta infrarrenal.

Enfermedad difusa de la aorta infrarrenal y ambas iliacas.

Estenosis difusa unilateral que afecta a CFA, EIA y CIA.

Oclusión unilateral de la CIA y EIA.

Oclusión bilateral de la EIA.

Estenosis iliaca en pacientes con aneurisma de aorta abdominal que requieren tratamiento quirúrgico no endovascular.

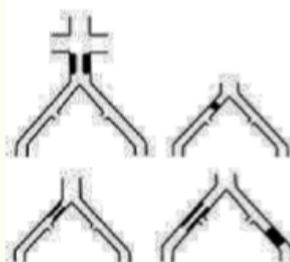
Lesiones A

Estenosis unilateral o bilateral de la AIC
Estenosis unilateral o bilateral ≥ 3 cm de la AIE



Lesiones B

Estenosis ≥ 3 cm de la aorta infrarrenal
Oclusión iliaca unilateral
Estenosis única o múltiple 3-10 cm que incluye la AIE y no la AFC
Oclusión unilateral de la AIE que no afecta a la AFC ni hipogástrica



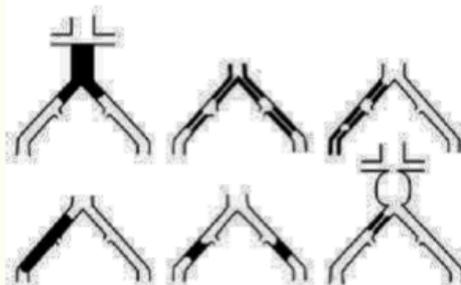
Lesiones C

Oclusión de AIC bilateral
Estenosis bilateral de la AIE 3-10 cm que afecta a AIE pero no a AFC
Estenosis unilateral de la AIE que engloba la AFC
Oclusión unilateral de la AIE que engloba la AFC o hipogástrica
Oclusión unilateral severamente calcificada de la AIE



Lesiones D

Oclusión de la aorta infrarrenal
Enfermedad difusa de la aorta infrarrenal y ambas iliacas
Estenosis difusa unilateral que afecta a AFC, AIE y AIC
Oclusión unilateral de AIC y AIE
Oclusión bilateral de AIE
Estenosis iliaca en paciente con AAA que requiere tratamiento quirúrgico no endovascular



Anexo IV. Clasificación TASC II arterial femorales (9).

Lesiones tipo A:

Estenosis única menor o igual a 10 cm de longitud.

Oclusión única menor o igual a 5 cm de longitud.

Lesiones tipo B:

Múltiples lesiones, cada una menor o igual a 5 cm.

Estenosis u oclusión única menor o igual a 15 cm que no incluye la poplítea infragenicular.

Lesiones únicas o múltiples en ausencia de continuidad con vasos tibiales para mejorar el flujo de entrada a un bypass distal.

Oclusión severamente calcificada menor o igual a 5 cm de longitud.

Lesiones tipo C:

Múltiples lesiones mayores o igual a 15 cm de longitud total.

Lesión recurrente que necesita tratamiento después de dos intervenciones endovasculares.

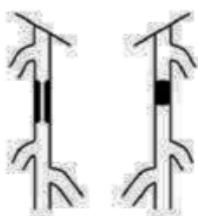
Lesiones tipo D:

Oclusión de la arteria femoral superficial (SFA) o CFA mayores a 20 cm que incluyen la arteria poplítea.

Oclusión crónica de la poplítea que incluye la trifurcación de los vasos distales.

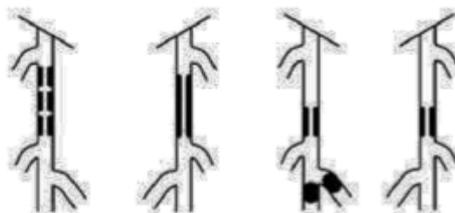
Lesiones tipo A

Estenosis única ≤ 10 cm de longitud
 Oclusión única ≤ 5 cm de longitud



Lesiones tipo B

Múltiples lesiones, cada una ≤ 5 cm
 Estenosis u oclusión única ≤ 15 cm que no incluye la poplítea infragenicular
 Lesiones únicas o múltiples en ausencia de continuidad con vasos tibiales para mejorar el flujo de entrada a un *bypass* distal
 Oclusión severamente calcificada ≤ 5 cm de longitud



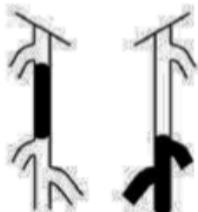
Lesiones tipo C

Múltiples lesiones ≥ 15 cm de longitud total
 Lesión recurrente que necesita tratamiento después de 2 intervenciones endovasculares



Lesiones tipo D

Oclusiones de la AFS o AFC > 20 cm que incluyen la poplítea
 Oclusión crónica de la poplítea que incluye la trifurcación de los vasos distales



Anexo V. Score Syntax enfermedad arterial coronaria (107).

El score Syntax califica a los pacientes con enfermedad coronaria multivaso según la complejidad anatómica de la misma. Se utiliza para estandarizar la complejidad de las lesiones anatómicas y predecir los resultados de la revascularización. Clasifica a los pacientes con cardiopatía isquémica en:

Bajo riesgo: puntuación 0-22.

Riesgo intermedio: puntuación 23-32.

Riesgo elevado: puntuación ≥ 33 .

Características que evalúa el score Syntax:

- Dominancia izquierda o derecha.
- Número de segmentos enfermos.
- Presencia oclusión total.
- Existencia y tipo de trifurcaciones.
- Existencia y tipo de bifurcaciones.
- Presencia de lesión aorto-ostial.
- Tortuosidad coronaria.
- Presencia de lesiones de más de 20 mm de longitud.
- Calcificación de la lesiones.
- Trombosis de lesiones.
- Enfermedad difusa y estrecha.

Dentro de las características de la lesión se evalúa:

Diámetro:

Oclusión total (x5).

Lesión significativa (50-99%) (x2).

Oclusión total:

Más de 3 meses o desconocido (+1).

Muñón con terminación abrupta o chata ("blunt stump") (+1).

Puente ("bridging") (+1).

Primer segmento visible después de la después de la oclusión total por flujo anterógrado o llenado retrógrado (+1).

Ramas laterales menores a 1.5 mm (+1).

Trifurcaciones:

Enfermedad de un segmento (+3).

Enfermedad de dos segmentos (+4).

Enfermedad de tres segmentos (+5).

Enfermedad de cuatro segmentos (+6).

Bifurcaciones:

Tipo 100, 010, 110 (+1).

Tipo 111, 101, 011, 001 (+2).

Angulación mayor a 70 grados (+1).

Lesiona orto-ostial (+1).

Tortuosidad severa (+2).

Lesiones mayores a 20mm de longitud (+1).

Gran calcificación (+2).

Trombo (+1).

Enfermedad difusa y estrecha (+ 1 por segmento).

Anexo VI. Clasificación Gensini enfermedad arterial coronaria (108).

Paso 1: cálculo de la puntuación de gravedad para cada lesión mayor al 25% y ajuste por oclusión total o 99 % de obstrucciones que reciben colaterales.

Grado de estenosis	Recepción colaterales	Ajuste por colaterales	Score de severidad
1-25 %	-	0	1
26-50 %	-	0	2
51-75 %	-	0	4
76-90 %	-	0	8
99 %	No	0	16
100 %	Si	-8	8
100 %	No	0	32
100 %	Si, vaso normal	- 16	32-16=16
100 %	Si, vaso con estenosis 25%	- 12	32-12=20
100 %	Si, vaso con estenosis 50%	- 8	32-8=24
100 %	Si, vaso con estenosis 75%	- 4	32-4=28
100 %	Si, vaso con estenosis 90%	- 2	32-2=30
100 %	Si, vaso con estenosis 99%	- 1	32-1=31

Paso 2: Se aplica un factor multiplicador a la puntuación de cada lesión según su ubicación en el árbol coronario.

Segmento	Dominancia derecha	Dominancia izquierda
CD proximal	1	1
CD media	1	1
CD distal	1	1
Rama descendente posterior	1	1
Rama posterolateral	0.5	0.5
TCI	5	5
DA proximal	2.5	2.5
DA media	1.5	1.5
DA distal	1	1
Primera diagonal	1	1
Segunda diagonal	0.5	0.5
Cx proximal	2.5	3.5
Cx media	1	2
Cx distal	1	2
Obtusa merginal	1	1

Paso 3: Sumar todos los scores de severidad de las lesiones.

Anexo VII. Artículos publicados en revistas científicas.

**Título: ELEVATED ILIAC CALCIUM SCORE AS A MARKER OF CORONARY
CALCIFICATION AND OVERALL ATHEROSCLEROTIC RISK.**

Autor: M^a Lourdes Del Rio-Sola.

Coautores: Irene Martín-Morquecho; Ana Revilla-Orodea; Israel Sanchez-Lite.

Revista: Annals of Vascular Surgery.

10. BIBLIOGRAFÍA.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Kasper DL., Fauci AS., Longo DL., Braunwald E., Hauser SL., Jameson JL., et al, autor Harrison TR. Principios de Medicina Interna. 19 ediciones. Mc Graw Hill education. 1578-1593.
2. Zipes, Douglas P., autor. Braunwald. Tratado de cardiología: texto de medicina cardiovascular / [directores editoriales, autores], Douglas P. Zipes, Peter Libby, Robert O. Bonow, Douglas L. Mann, Gordon F. Tomaselli; revisor científico, Luis Rodríguez Padial. Décimoprimer edición. Barcelona, España: Elsevier, 2019: 1328-1351.
3. Fernández-Friera L, Peñalvo JL, Fernández-Ortiz A, Ibañez B, López-Melgar B, Laclaustra M, Oliva B, et al. Prevalence, Vascular Distribution, and Multiterritorial Extent of Subclinical Atherosclerosis in a Middle-Aged Cohort: The PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study. *Circulation*. 2015; 131(24):2104-13.
4. DL. Bhatt, PG Steg, EM. Ohman, AT. Hirsch, Y. Ikeda, JL. Mas, S. Goto, C-S. Liao, AJ. Richard, J. Rother, PWF. Wilson, on behalf of the REACH Registry Investigators. International Prevalence, Recognition, and Treatment of Cardiovascular Risk Factors in Outpatients with Atherothrombosis. *JAMA* 2006; 295:180-9.
5. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink MEL, Björck M, Brodmann M, Cohnert T, et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. *Eur Heart J*. 2018; 39(9):763–816.
6. Gremmel T, Xhelili E, Steiner S, Koppensteiner R, Kopp CW, Panzer S. Response to antiplatelet therapy and platelet reactivity to thrombin receptor activating peptide-6 in cardiovascular interventions: Differences between peripheral and coronary angioplasty. *Atherosclerosis*. 2014; 232(1):119-24.
7. Jeffrey S. Berger and; Joseph A. Ladapo. Underuse of Prevention and Lifestyle Counseling in Patients With Peripheral Artery Disease *J Am Coll Cardiol*. 2017 May, 69 (18) 2293-2300.

8. Lahoz C., y Mostaza JM. La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Rev Esp Cardiol.* 2007; 60(2):184-95.
9. Serrano Hernando FJ. y Martín Conejero A., Enfermedad arterial no coronaria. Enfermedad arterial periférica: aspectos fisiopatológicos, clínicos y terapéuticos. *Rev Esp Cardiol.* 2007; 60(9):969-82.
10. Viles-González JF, Fuster V, Badimon JJ. Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J.* 2004; 25:1197-207.
11. S.S. Lim, T. Vos, A.D. Flaxman, G. Danaei, K. Shibuya, H. Adair-Rohani, M. Amann, H.R. Anderson, K.G. Andrews, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 2012, 380: 2224-2260.
12. François Mach, Colin Baigent, Alberico L Catapano, Konstantinos C Koskinas, Manuela Casula, Lina Badimon, M John Chapman, Guy G De Backer, Victoria Delgado, et al. ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*, Volume 41, Issue 1, 2020, 111–188.
13. E. Prescott, M. Hippe, P. Schnohr, H.O. Hein, J. Vestbo. Smoking and risk of myocardial infarction in women and men: longitudinal population study. *BMJ*, 316 (1998), 1043-1047
14. R. Doll, R. Peto, J. Boreham, I. Sutherland. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. *BMJ.* 2004, 328: 1519.
15. R.R. Huxley, M. Woodward. Cigarette smoking as a risk factor for coronary heart disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Lancet.* 2011, 378: 1297-1305.
16. X. Lv, J. Sun, Y. Bi, M. Xu, J. Lu, L. Zhao, Y. Xu. Risk of all-cause mortality and cardiovascular disease associated with secondhand smoke exposure: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2015, 199: 106-115.

17. R. Gupta, S. Gupta, S. Sharma, D.N. Sinha, R. Mehrotra. Risk of Coronary Heart Disease Among Smokeless Tobacco Users: Results of Systematic Review and Meta-Analysis of Global Data. *Nicotine Tob Res.* 2019, 21: 25-31.
18. S. Lewington, R. Clarke, N. Qizilbash, R. Peto, R. Collins. Prospective Studies Collaboration Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*, 2002, 360: 1903-1913.
19. S.P. Whelton, J.W. McEvoy, L. Shaw, B.M. Psaty, J.A.C. Lima, M. Budoff, K. Nasir, M. Szklo, R.S. Blumenthal, M.J. Blaha. Association of Normal Systolic Blood Pressure Level With Cardiovascular Disease in the Absence of Risk Factors. *JAMA Cardiol.* 2020, 5: 1011-1018.
20. H. Ji, T.J. Niiranen, F. Rader, M. Henglin, A. Kim, J.E. Ebinger, B. Claggett, C.N.B. Merz, S. Cheng. Sex Differences in Blood Pressure Associations With Cardiovascular Outcomes. *Circulation* 2021, 143: 761-763.
21. H. Ji, A. Kim, J.E. Ebinger, T.J. Niiranen, B.L. Claggett, C.N. Bairey Merz, S. Cheng. Differences in Blood Pressure Trajectories Over the Life Course. *JAMA Cardiol*, 2020, 5: 19-26.
22. B.A. Ference, H.N. Ginsberg, I. Graham, K.K. Ray, C.J. Packard, E. Bruckert, R.A. Hegele, R.M. et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*, 2017, 38: 2459-2472.
23. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, C. Baigent, L. Blackwell, J. Emberson, L.E. Holland, C. Reith, N. Bhala, R. Peto, E.H. Barnes, A. Keech, J. Simes, R. Collins. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*, 2010, 376: 1670-1681.
24. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators, B. Mihaylova, J. Emberson, L. Blackwell, A. Keech, J. Simes, E.H. Barnes, M. Voysey, A. Gray, R. Collins, C. Baigent. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of

- vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet* 2012, , 380: 581-590.
25. Emerging Risk Factors Collaboration, E. Di Angelantonio, N. Sarwar, P. Perry, S. Kaptoge, K.K. Ray, A. Thompson, A.M. Wood, S. Lewington, N. Sattar, C.J. Packard, R. Collins, S.G. Thompson, J. Danesh. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*, 2009, 302: 1993-2000.
 26. B.F. Voight, G.M. Peloso, M. Orho-Melander, R. Frikke-Schmidt, M. Barbalic, M.K. Jensen, G. Hindy, H. Holm, et al. Plasma cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet*, 380 (2012), pp. 572-580.
 27. M.V. Holmes, F.W. Asselbergs, T.M. Palmer, F. Drenos, M.B. Lanktree, C.P. Nelson, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2015, 36 : 539-550.
 28. K.M. Pencina, G. Thanassoulis, J.T. Wilkins, R.S. Vasan, A.M. Navar, E.D. Peterson, M.J. Pencina, A.D. Sniderman. Trajectories of Non-HDL Cholesterol Across Midlife: Implications for Cardiovascular Prevention. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 74: 70-79.
 29. R. Frikke-Schmidt, B.G. Nordestgaard, M.C. Stene, A.A. Sethi, A.T. Remaley, P. Schnohr, P. Grande, A. Tybjaerg-Hansen. Association of loss-of-function mutations in the ABCA1 gene with high-density lipoprotein cholesterol levels and risk of ischemic heart disease. *JAMA*, 2008, 299: 2524-2532.
 30. Collaborative Group, L. Bowman, J.C. Hopewell, F. Chen, K. Wallendszus, W. Stevens, R. Collins, S.D. Wiviott, C.P. Cannon, E. Braunwald, E. Sammons, M.J. Landray. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. *N Engl J Med*, 2017, 377: 1217-1227.
 31. Klempfner R., Erez A., Sagit BZ., et al. Elevated triglyceride level is independently associated with increased all-cause mortality in patients with established coronary heart disease: twenty-two-year follow-up of Bezafibrate Infarction Prevention Study Registry. *Cir Cardiovasc Qual Outcomes* 2016; 9:100-108.
 32. Toth PP, Granowitz C, Hull M, Liassou D, Aderson A, Philip S. High triglycerides are associated with increased cardiovascular events, medical costs, and resource use: a

- real-world administrative claims analysis of statin-treated patients with high residual cardiovascular risk. *J Am Heart Assoc* 2018; 7 (15): e008740.
33. Deepak L. Bhatt, Gabriel Steg, Michael Miller, Eliot A. Brinton, Terri A. Jacobson, et al. Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia. *N Eng J Med*. 2019, 380 (1): 11-22.
 34. S.A. Peters, R.R. Huxley, M. Woodward. Diabetes as a risk factor for stroke in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts, including 775,385 individuals and 12,539 strokes. *Lancet* 2014, 383: 1973-1980.
 35. Emerging Risk Factors Collaboration, N. Sarwar, P. Gao, S.R. Seshasai, R. Gobin, S. Kaptoge, E. Di Angelantonio, E. Ingelsson, D.A. Lawlor, E. Selvin, M. Stampfer, C.D. Stehouwer, S. Lewington, L. Pennells, A. Thompson, N. Sattar, I.R. White, K.K. Ray, J. Danesh. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010, 375: 2215-2222.
 36. NCD, Risk Factor Collaboration, (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128., 9 million children, adolescents, and, adults. *Lancet*, 2017, 390: 2627-2642.
 37. Y.Q. Sun, S. Burgess, J.R. Staley, A.M. Wood, S. Bell, S.K. Kaptoge, Q. Guo, T.R. Bolton, A.M. Mason, A.S. Butterworth, E. Di Angelantonio, G.A. Vie, J.H. Bjorngaard, J.M. Kinge, Y. Chen, X.M. Mai. Body mass index and all-cause mortality in HUNT and UK Biobank studies: linear and non-linear mendelian randomisation analyses. *BMJ*, 2019, 364: l1042.
 38. B.M.I. Global, Mortality Collaboration, E. Di Angelantonio, N. Bhupathiraju Sh, D. Wormser, P. Gao, et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet* 2016, 388: 776-786.
 39. D. Aune, A. Sen, M. Prasad, T. Norat, I. Janszky, S. Tonstad, P. Romundstad, L.J. Vatten. BMI and all-cause mortality: systematic review and non-linear dose-response

- meta-analysis of 230 cohort studies with 3.74 million deaths among 30.3 million participants. *BMJ*, 2016, 353: i2156.
40. Emerging Risk Factors Collaboration, D. Wormser, S. Kaptoge, E. Di Angelantonio, A.M. Wood, et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet*, 2011, 377: 1085-1095.
 41. Kannel W, Wolf P, Garrison R. The Framingham Study: an epidemiological investigation of cardiovascular disease. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 1987.
 42. Stary HC. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992; 421(4):277–90.
 43. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, In- sull W Jr, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995; 92:1355-74.
 44. Hanke H, Lenz C, Finking G. The discovery of the pathophysiological aspects of atherosclerosis--a review. *Acta Chir Belg*. 2001;101(4):162–9.
 45. Martínez-González J., Llorente-Cortés V. y Badimon L. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54: 218-231.
 46. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation*. 2008; 117(22):2938–48.
 47. Irkle A, Vesey AT, Lewis DY, Skepper JN, Bird JL, Dweck MR, et al. Identifying active vascular microcalcification by (18) F-sodium fluoride positron emission tomography. *Nat Commun*. 2015; 6:7495.
 48. QIAO, Jian-Hua, et al. Calcification of the coronary arteries in the absence of atherosclerotic plaque. En *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier, 2005. p. 807-809.
 49. Jono S, Ikari Y, Vermeer C, et al. Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography. *Thromb Haemost* 2004; 91:790-4.
 50. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res*. 2006; 99(10):1044–59.

51. Chiva-Blanch G, Padró T, Alonso R, Crespo J, Perez de Isla L, Mata P, Badimon L. Liquid Biopsy of Extracellular Microvesicles Maps Coronary Calcification and Atherosclerotic Plaque in Asymptomatic Patients With Familial Hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 May; 39(5):945-955.
52. Donna K. Arnett, Roger S. Blumenthal, Michelle A. Albert, Andrew B. Buroker, Zachary D. Goldberger, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2019;140:e596–e646.
53. Frank L.J. Visseren, François Mach, Yvo M. Smulders, David Carballo, Konstantinos C. Koskinas, Maria Bäck. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal* 2021, 1111.
54. María Grau, Jaume Marrugat, et al. Risk Functions and the Primary Prevention of Cardiovascular Disease. *Rev Esp Cardiol.* 2008; 61(4):404-16.
55. Anderson KM, Odell PM, Wilson P, Kannel WF. Cardiovascular disease risk profiles. *Am Heart J.* 1990, 121: 293-8.
56. D'Agostino RB, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. CHD Risk Prediction Group. Validation of the Framingham Coronary Heart Disease Prediction Scores: Results of a Multiple Ethnic Groups Investigation. *JAMA,* 2001, 286:180-7.
57. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation,* 97 (1998), pp. 1837-47.
58. Hense HW, Schulte H, Lowel H, Assmann G, Keil U. Framingham risk function overestimates risk of coronary heart disease in men and women from Germany: results from the MONICA Augsburg and the PROCAM cohorts. *Eur Heart J.* 2003, 24:937-45.
59. Empana JP, Ducimetiere P, Arveiler D, Ferrieres J, Evans A, Ruidavets JB, et al. Are the Framingham and PROCAM coronary heart disease risk functions applicable to different European populations? The PRIME Study. *Eur Heart J,* 2003, 24: 1903-11.
60. Thomsen TF, McGee D, Davidsen M, Jorgensen T. A cross-validation of risk-scores for coronary heart disease mortality based on data from the Glostrup Population Studies and Framingham Heart Study. *Int J Epidemiol,* 2002, 31: 817-22.

61. Menotti A, Lanti M, Puddu PE, Kromhout D. Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for a European coronary risk chart. *Heart*. 2000, 84: 238-44.
62. Liu J, Hong Y, D'Agostino RB, Wu Z, Wang W, Sun J, et al. Predictive value for the Chinese population of the Framingham CHD risk assessment tool compared with the Chinese Multi-Provincial Cohort Study. *JAMA* 2004, 291:2591-9.
63. Ramos R, Solanas P, Cordón F, Rohlfis I, Elosua R, Sala J, et al. Comparación de la función de Framingham original y la calibrada del REGICOR en la predicción del riesgo coronario poblacional. *Med Clin (Barc)*, 121 (2003), pp. 521-6.
64. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan L, Ordovas J, Cordon F, et al. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Rev Esp Cardiol*. 2003, 56:253-61.
65. Marrugat J, D'Agostino R, Sullivan L, Elosua R, Wilson P, Ordovas J, et al. An adaptation of the Framingham coronary heart disease risk functions to European Mediterranean areas. *J Epidemiol Community Health* 2003, 57:634-8.
66. Marrugat J, Subirana I, Comín E, Cabezas C, Vila J, Elosua R, et al. Validity of an adaptation of the Framingham cardiovascular risk function: the VERIFICA Study. *J Epidemiol Community Health*, 2007, 61:40-7.
67. Cristóbal J, Lago F, De la Fuente J, González-Juanatey JR, Vázquez-Belles P, Vila M. Ecuación de Framingham de Wilson y ecuación de REGICOR. Estudio comparativo. *Rev Esp Cardiol*. 2005, 58:910-5.
68. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*. 2003, 24:987-1003.
69. Sans S, Fitzgerald AP, Royo D, Conroy R, Graham I. Calibración de la tabla SCORE de riesgo cardiovascular para España. *Rev Esp Cardiol*, 2007, 60: 476-85.
70. Verschuren WM.M, Jacobs DR, Bloemberg BP.M, Kromhout D, Menotti A, Aravanis C, et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *JAMA* 1995, 274:131-6.

71. Van den Hoogen PC, Feskens EJ, Nagelkerke NJ, Menotti A, Nissinen A, Kromhout D. The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. Seven Countries Study Research Group. *N Engl J Med*. 2000, 342:1-8.
72. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107:363-9.
73. Wang TJ, Nam BH, Wilson PW, Wolf PA, Levy D, Polak JF, et al. Association of C-reactive protein with carotid atherosclerosis in men and women: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22:1662-7.
74. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Kupka MJ, Manning WJ, et al. C-reactive protein is associated with subclinical epicardial coronary calcification in men and women: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2002; 106:1189-91.
75. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe 24. CH, et al. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med*. 2005; 352:20-8.
76. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P. Narrative review: assessment of C-reactive protein in risk prediction for cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2006; 145:35-42.
77. Cook NR, Buring JE, Ridker PM. The effect of including C-reactive protein in cardiovascular risk prediction models for women. *Ann Intern Med*. 2006; 145:21-9.
78. Suárez garcía, I., et al. La homocisteína: ¿ El factor de riesgo cardiovascular del próximo milenio?. En *Anales de Medicina Interna*. Arán Ediciones, SL, 2001. p. 53-59. Burgess S, Ference BA, Staley JR, Freitag DF, Mason AM, Nielsen SF, Willeit P, et al. European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition Cardiovascular Disease (EPIC-CVD) Consortium. Association of LPA variants with risks of coronary disease and the implications for lipoprotein (a)-lowering therapies: a mendelian randomization analysis. *JAMA Cardiol* 2018; 3:619-627.
79. Parish S, Hopewell JC, Hill MR, Marcovina S, Valdes-Marquez E, Haynes R, Offer. A, Pedersen TR, Baigent C, Collins R, Landray M, Armitage J; HPS2-THRIVE. Collaborative Group. Impact of apolipoprotein (a) isoform size on lipoprotein (a). Lowering in the HPS2-THRIVE Study. *Circ Genom Precis Med* 2018; 11:e001696.

80. Lamina C, Meisinger C, Heid IM, Lowel H, Rantner B, Koenig W, et al. Association of ankle-brachial index and plaques in the carotid and femoral arteries with cardiovascular events and total mortality in a population-based study with 13 years of follow-up. *Eur Heart J*. 2006; 27:2580-7.
81. Leng GC, Fowkes FG, Lee AJ, Dunbar J, Housley E, Ruckley CV. Use of ankle brachial pressure index to predict cardiovascular events and death: a cohort study. *BMJ*. 1996; 313:1440-4.
82. Newman AB, Shemanski L, Manolio TA, Cushman M, Mittelmark M, Polak JF, et al. Ankle-arm index as a predictor of cardiovascular disease and mortality in the Cardiovascular Health Study. The Cardiovascular Health Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19:538-45.
83. Fowkes FG, Low LP, Tuta S, Kozak J; AGATHA Investigators. Ankle-brachial index and extent of atherothrombosis in 8891 patients with or at risk of vascular disease: results of the international AGATHA study. *Eur Heart J*. 2006 Aug; 27(15):1861-7.
84. Mostaza JM, Vicente I, Cairols M, Castillo J, González-Juanatey JR, Pomar JL, et al. Índice tobillo-brazo y riesgo cardiovascular. *Med Clin (Barc)*. 2003; 121:68-73.
85. Vicente I, Lahoz C, Taboada M, García A, San Martín MA, Terol I, et al. Prevalencia de un índice tobillo-brazo anormal en relación con el riesgo cardiovascular estimado por la función de Framingham. *Med Clin (Barc)*. 2005; 124:641-4.
86. Vicente I, Lahoz C, Taboada M, Laguna F, García-Iglesias F, Mostaza Prieto JM. Índice tobillo-brazo en pacientes con diabetes mellitus: prevalencia y factores de riesgo. *Rev Clin Esp*. 2006; 206:225-9.
87. O'Hare AM, Katz R, Shlipak MG, Cushman M, Newman AB. Mortality and cardiovascular risk across the ankle-arm index spectrum: results from the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2006; 113:388-93.
88. Resnick HE, Lindsay RS, McDermott MM, Devereux RB, Jones KL, Fabsitz RR, et al. Relationship of high and low ankle brachial index to all-cause and cardiovascular disease mortality: the Strong Heart Study. *Circulation*. 2004; 109:733-9.
89. Lahoz C, Mostaza JM. Índice tobillo-brazo: una herramienta útil para la estratificación del riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol*. 2006; 59:647-9.

90. Leng GC, Fowkes FG, Lee AJ, Dunbar J, Housley E, Ruckley CV. Use of ankle brachial pressure index to predict cardiovascular events and death: a cohort study. *BMJ*. 1996; 313:1440-4.
91. Newman AB, Shemanski L, Manolio TA, Cushman M, Mittelmark M, Polak JF, et al. Ankle-arm index as a predictor of cardiovascular disease and mortality in the Cardiovascular Health Study. The Cardiovascular Health Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19:538-45.
92. Collins R, Cranny G, Burch J, Aguiar-Ibanez R, Craig D, Wright K, Berry E, Gough M, Kleijnen J, Westwood M. A systematic review of duplex ultrasound, magnetic resonance angiography and computed tomography angiography for the diagnosis and assessment of symptomatic, lower limb peripheral arterial disease. *Health Technol Assess*. 2007, 11:1-184.
93. Dominguez A 3rd, Bahadorani J, Reeves R, Mahmud E, Patel M. Endovascular therapy for critical limb ischemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2015; 13:429-444.
94. Met R, Bipat S, Legemate DA, Reekers JA, Koelemay MJ. Diagnostic performance of computed tomography angiography in peripheral arterial disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2009; 301:415-424.
95. Wirenfelddt Nielsen Y. J., Tutors: Henrik S. Thomsen, Torben V. Schroeder & Jonas P. Eiberg. Whole-body MR angiography in patients with peripheral arterial disease. *Dan Med Bull* 2010;57(12)B4231.
96. Menke J, Larsen J. Meta-analysis: accuracy of contrast-enhanced magnetic resonance angiography for assessing steno-occlusions in peripheral arterial disease. *Ann Intern Med*. 2010; 153:325-334.
97. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, de Bruyne B, Cristea E, Mintz GS, Mehran R, McPherson J, Farhat N, Marso SP, Parise H, Templin B, White R, Zhang Z, Serruys PW; PROSPECT Investigators. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 364(3):226-35.
98. Arbab-Zadeh A, Fuster V. The myth of the "vulnerable plaque": transitioning from a focus on individual lesions to atherosclerotic disease burden for coronary artery disease risk assessment. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65(8):846-855.

99. Lindholt JS, Søgaard R. Population screening and intervention for vascular disease in Danish men (VIVA): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2017; 390:2256–65.
100. Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, Mathiesen EB, Volze H, Tupmainen TP, et al. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2012; 379:2053–62.
101. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, Volcik K, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Apr 13;55(15):1600-7.
102. Guaricci AI, Arcadi T, Brunetti ND, Maffei E, Montrone D, Martini C, et al. Carotid intima media thickness and coronary atherosclerosis linkage in symptomatic intermediate risk patients evaluated by coronary computed tomography angiography. *Int J Cardiol*. 2014; 176:988–93.
103. Chow BJ, Small G, Yam Y, Chen L, Achenbach S, Al-Mallah M, Berman DS, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang HJ, Cheng V, Chinnaiyan KM, Delago A, Dunning A, Hadamitzky M, Hausleiter J, Kaufmann P, Lin F, Maffei E, Raff GL, Shaw LJ, Villines TC, Min JK; CONFIRM Investigators. Incremental prognostic value of cardiac computed tomography in coronary artery disease using CONFIRM: COroNary computed tomography angiography evaluation for clinical outcomes: an InteRnational Multicenter registry. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2011; 4(5):463-72.
104. Xie JX, Eshtehardi P, Varghese T, Goyal A, Mehta PK, Kang W, Leipsic J, Ó Hartaigh B, Bairey Merz CN, et al. Prognostic Significance of Non obstructive Left Main Coronary Artery Disease in Women Versus Men: Long-Term Outcomes From the CONFIRM (Coronary CT Angiography Evaluation For Clinical Outcomes: An International Multicenter) Registry. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2017; 10(8):e006246.
105. Greenland P, LaBree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano RC. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *JAMA*. 2004; 291:210–5.

106. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, et al. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med.* 2008; 358: 1336-45.
107. Matthew J. Budoff MD, FACC, FAHA, Robyn L. McClelland PhD, Khurram Nasir MD, MPH, Philip Greenland MD, Richard A. Kronmal PhD, George T. Kondos MD, Steven Shea MD, Joao A.C. Lima MD, Roger S. Blumenthal MD. Cardiovascular events with absent or minimal coronary calcification: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am Heart J* 2009; 158:554-61.
108. Gökdeniz T, Kalaycıoğlu E, Aykan AÇ, Boyacı F, Turan T, Gül İ, et al. Value of coronary artery calcium score to predict severity or complexity of coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol.* 2014; 102:120-7.
109. Barrett-Connor E, Laughlin GA, Connor C. Coronary artery calcium versus intima-media thickness as a measure of cardiovascular disease among asymptomatic adults (from the Rancho Bernardo Study). *Am J Cardiol.* 2007; 99:227–31.
110. Polak JF, Szklo M, O’Leary DH. Carotid Intima-Media Thickness Score, Positive Coronary Artery Calcium Score, and Incident Coronary Heart Disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6:e004612.
111. Cohen GI, Aboufakher R, Bess R, Frank J, Othman M, Doan D, et al. Relationship between carotid disease on ultrasound and coronary disease on CT angiography. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2013; 6(11):1160–7.
112. Aykan AÇ, Hatem E, Karabay CY, Gül İ, Gökdeniz T, Kalaycıoğlu E, et al. A Complexity of lower extremity peripheral artery disease reflects the complexity of coronary artery disease. *Vascular.* 2015; 23(4):366–73.
113. Sharma RK, Donekal S, Rosen BD, Tattersall MC, Volpe GJ, Ambale-Venkatesh B, et al. Association of subclinical atherosclerosis using carotid intima-media thickness, carotid plaque, and coronary calcium score with left ventricular dyssynchrony: the multiethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015; 239:412–8.
114. Allison MA, His S, Wassel CL, Morgan C, Ix JH, Wright CM, et al. Calcified atherosclerosis in different vascular beds and the risk of mortality. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32:140–6.

115. Hendriks EJ, Beulens JW, de Jong PA, van der Schouw YT, Sun WN, Wright CM, et al. Calcification of the splenic, iliac, and breast arteries and risk of all-cause and cardiovascular mortality. *Atherosclerosis*. 2017; 259:120–7.
116. Redouane Aherrahrou, Liang Guo, V. Peter Nagraj, Aaron Aguhob et al. Genetic Regulation of Atherosclerosis-Relevant Phenotypes in Human Vascular Smooth Muscle Cells. *Circulation Research*. 2020; 127:1552–1565.
117. Bos D, Leening MJ, Kavousi M, Hofman A, Franco OH, van der Lugt A, et al. Comparison of Atherosclerotic Calcification in Major Vessel Beds on the Risk of All-Cause and Cause-Specific Mortality: The Rotterdam Study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2015; 8: e003843.
118. Morgan, T. H. (1910). Sex-limited inheritance in *Drosophila* (Herencia limitada por el sexo en *Drosophila*). *Science* 32, 120-122.
119. Hartwell, L. H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A. E., Silver, L. M., and Veres, R. C. (2008). Analysis of rare mistakes in meiosis provided further support for the chromosome theory. *Genetics: From genes to genomes* 3rd ed: 109-110.
120. Amit V. Khera, M.D., Connor A. Emdin, D.Phil., Isabel Drake, Ph.D., Pradeep Natarajan, M.D. et al. Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and Coronary Disease List of authors. *N Engl J Med* 2016; 375:2349-2358.
121. Terence M. Doherty, BA; Iorraine A. Fitzpatrick, MD; Aisha Shaheen, BA et al. Genetic Determinants of Arterial Calcification Associated With Atherosclerosis. *Mayo Clin. Proc*, February 2004, Vol 79.
122. Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol*. 2000; 410:289-302.
123. Cambien F, Evans A. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease. *Eur Heart J*. 1995; 16(suppl K):13-22.
124. Wang XL, McCredie RM, Wilcken DE. Genotype distribution of angiotensin-converting enzyme polymorphism in Australian healthy and coronary populations and relevance to myocardial infarction and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16:115-119.

125. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem.* 1983; 52:223-261.
126. Strittmatter WJ, Bova Hill C. Molecular biology of apolipoprotein E. *Curr Opin Lipidol.* 2002; 13:119-123.
127. Kardina SL, Haviland MB, Ferrell RE, Sing CF. The relationship between risk factor levels and presence of coronary artery calcification is dependent on apolipoprotein E genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19:427-435.
128. Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2002; 155:487-495.
129. Contois JH, Anamani DE, Tsongalis GJ. The underlying molecular mechanism of apolipoprotein E polymorphism: relationships to lipid disorders, cardiovascular disease, and Alzheimer's disease. *Clin Lab Med.* 1996; 16:105-123.
130. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis.* 1988; 8:1-21.
131. Kriegelstein CF, Granger DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens.* 2001; 14(6, pt 2):44S-54S.
132. 141. Hartwell DW, Wagner DD. New discoveries with mice mutant in endothelial and platelet selectins. *Thromb Haemost.* 1999; 82:850-857.
133. Dimitroff CJ, Lee JY, Rafii S, Fuhlbrigge RC, Sackstein R. CD44 is a major E-selectin ligand on human hematopoietic progenitor cells. *J Cell Biol.* 2001; 153:1277-1286.
134. Shah PK, Wilkin DJ, Doherty TM, et al. Therapeutic developments in matrix metalloproteinase inhibition. *Expert Opin Ther Patents.* 2002; 12:665-707.
135. Karsli-Ceppioglu S, Yazar S., Keskin Y., Karaca M., et al. Association of genetic polymorphisms in the *matrix gla protein (mgp)* gene with coronary artery disease and serum mgp levels. *Balkan journal of medical genetics.* 22 (2), 2019; 43-50.
136. Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, et al. Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. *Nat Genet.* 1999; 21:142-144.
137. Tang J, Shelton B, Makhatadze NJ, et al. Distribution of chemokine receptor CCR2 and CCR5 genotypes and their relative contribution to human immunodeficiency virus type 1

- (HIV-1) seroconversion, early HIV-1 RNA concentration in plasma, and later disease progression. *J Virol.* 2002; 76:662-672.
138. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med.* 2002; 346:340-352.
139. Lehtimaki T, Kunnas TA, Mattila KM, et al. Coronary artery Wall atherosclerosis in relation to the estrogen receptor 1 gene polymorphism: an autopsy study. *J Mol Med.* 2002; 80:176-180.
140. Valdimarsdottir G, Goumans MJ, Rosendahl A, et al. Stimulation of Id1 expression by bone morphogenetic protein is sufficient and necessary for bone morphogenetic protein-induced activation of endothelial cells. *Circulation.* 2002; 106:2263-2270.
141. Johnson K, Goding J, Van Etten D, et al. Linked deficiencies in extracellular PP(i) and osteopontin mediate pathologic calcification associated with defective PC-1 and ANK expression. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:994-1004.
142. Rajeev Malhotra, Andreas C. Mauer, Christian L. Lino Cardenas, Xiuqing Guo, et al. HDAC9 is implicated in atherosclerotic aortic calcification and affects vascular smooth muscle cell phenotype. *Nat Genet.* 2019; 51(11):1580–1587.
143. Yi-Cheng Chen a, Kuang-Hung Hsu b, Hung-Yi Chiou c, Yue-Li Juang d, et al. Associations of lipid-related genetic markers with elevated carotid intima-media thickness in middle-age adults and elders. *International Journal of Cardiology* 2015; 189:264–266.
144. T.W. Wu, H.L. Chan, C.L. Hung, I.J. Lu, S.D. Wang, S.W. Wang, et al., Differential patterns of effects of age and sex on metabolic syndrome in Taiwan: implication for the inadequate internal consistency of the current criteria, *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2014 105:239–244.
145. McGeachie M, Ramoni RL, Mychaleckyj JC, Furie KL, Dreyfuss JM, Liu Y, et al. Integrative predictive model of coronary artery calcification in atherosclerosis. *Circulation.* 2009; 120:2448–54.